

ANIBIA VICENTE DA SILVA

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE GLIRICÍDIA**

**RECIFE – PE
MAIO DE 2013**

ANIBIA VICENTE DA SILVA

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE GLIRICÍDIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Ciências do Solo) da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Ciências do Solo).

Orientadora: Dra. Márcia do Vale Barreto Figueiredo
Co-orientadores: Dra. Sônia Formiga de Albuquerque
Dr. José de Paula Oliveira

**RECIFE – PE
MAIO DE 2013**

Ficha Catalográfica

S586e

Silva, Anibia Vicente da

Eficiência simbiótica da inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de gliricídia / Anibia Vicente da Silva. -- Recife, 2013.
57 f.

Orientador (a): Márcia do Vale Barreto Figueiredo.
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2013.
Inclui referências e apêndice.

1. Solo – Microbiologia 2. *Gliricidia sepium* 3. Nodulação
4. Fixação de N₂ 5. FMA 6. BPCP's I. Figueiredo, Márcia do Vale Barreto, Orientador II. Título

CDD 631.4

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE GLIRICÍDIA**

ANIBIA VICENTE DA SILVA

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 14 de maio de 2013

ORIENTADORA:

Dra. Márcia do Vale Barreto Figueiredo
Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA/SEAGRI

EXAMINADORES:

Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dra. Janete Magali de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

DEDICO

Aos meus amados pais Eva Maria e Carlos Roberto, muito obrigada por me educarem nos caminhos de Jesus, sem Ele nada é possível. Aos meus amados irmãos Felipe Januário e Eva Vitória, meu amor por vocês é incondicional e eterno.

OFEREÇO

A Deus, o único capaz de me fornecer toda energia e sabedoria necessária para chegar ao fim dessa jornada e ao início de novas. E a minha amada avó Maria José Mendes da Silva (Dona China), eterna educadora, minha inspiração, você está para sempre em meu coração (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pois a Ele pertence toda glória e adoração, e sei que sempre está presente em minha vida.

Ao meu primeiro amor, Eva Maria, minha mãe, a quem amei no momento em que olhei diretamente nos seus olhos, mesmo sem entender qual o significado da palavra amor, podia senti-lo e sinto todos os dias, através dos cuidados, carinhos e eternas demonstrações de amor e afeto. Sempre a amarei.

Ao meu pai, Carlos Roberto, um homem valoroso, forte, cuidadoso, carinhoso, amigo e extremamente prestativo comigo, não medindo distância para atender as minhas necessidades. Amo você pai.

Aos meus amados irmãos Filipe Januário e Eva Vitória, obrigada por estarem sempre comigo.

A minha amada família composta de tios, tias, primos e primas maravilhosos, que sempre me deram amor e atenção, que sempre me apoiou. Amo a cada um de vocês, seremos sempre uma família unida em Cristo.

A minha querida orientadora, Dra. Márcia do Vale Barreto Figueiredo, excelente profissional, sempre atenciosa, cuidadosa e com uma enorme vontade de ajudar e me auxiliar, direcionando-me no caminho correto. Deus abençoe e ilumine sempre o seu caminho, foi uma honra, tê-la como minha orientadora.

Ao meu co-orientador Dr. José de Paula Oliveira, por toda ajuda e comprometimento comigo, e por seus valorosos conselhos.

A minha co-orientadora e amiga Dra. Sônia Formiga de Albuquerque, que ao longo da minha caminhada acadêmica me auxiliou e orientou o melhor caminho a seguir. Agradeço sua amizade e carinho. Deus te abençoe sempre.

A Igor Tenório, amigo, companheiro, conselheiro e acima de tudo, o meu amor. Agradeço-te por não medir esforços para estar ao meu lado, em todos os momentos.

Aos meus queridos amigos Remy e Flávio, vocês são uma dupla implacável. Obrigada por toda atenção e carinho comigo durante esses longos dois anos.

As amigas Esmeralda e Emmanuella, obrigada por toda sua ajuda e atenção, vencemos muitas etapas juntas e construímos uma bela amizade.

A todos os amigos da Turma 2011.1, obrigada, foi maravilhoso compartilhar todos os momentos desse curso, divididos entre alegrias e tensões.

Um abraço especial para todos: Igor, Esmeralda, Monaliza, Maykon, Janyelle, Camila, Ygor, Yuri, Diego, Gerson, Flávio, Remy, Elaine, enfim, todos que participaram dessa etapa tão importante para cada um de nós.

Aos meus amigos e amigas do Laboratório de Biologia de Solo: Emmanuella Vila Nova, Esmeralda Lopes, Jadson Antunes, Maria Vanilda, Marta Amâncio, Arthur Lira, Josemir Ferreira (Júnior), Fernando (Nandinho), Sr. Mário, Rosa Moraes, Carolina Kropniczki, Rogério Portela, pelo convívio, carinho e apoio prestado.

Aos Professores do Programa, Valdomiro de Souza, Clístenes Nascimento, Maria Betânia Freire, Mário Lira Jr., Brivaldo Almeida, Newton Stamford, Carolina Etienne, pelos ensinamentos transmitidos.

As pesquisadoras do IPA: Dra. Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão e Dra. Luiza Bastos, por todo carinho, atenção e valerosos conselhos.

Ao Sr. Venézio Felipe dos Santos pela ajuda prestada na estatística deste trabalho.

Ao Dr. Roberto Vicente Gomes, por todo apoio prestado durante o período do experimento.

As minhas queridas amigas da graduação Alinne Freire e Vanessa Michelle, muito obrigada por estar sempre ao meu lado, a amizade de vocês é muito especial.

Aos funcionários da UFRPE Maria do Socorro e Josué pela atenção e todo apoio durante a realização do curso.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, que sempre esteve de portas abertas para o conhecimento e pesquisa, e onde pude aprender e crescer como profissional e pesquisadora.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo pela excelente oportunidade de aprendizado e realização do curso de mestrado.

A FACEPE e a CAPES pelo apoio financeiro durante o curso.

Muito obrigada a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho. Deus abençoe vocês.

*Os que conhecem o teu nome confiam em ti, pois
tu, Senhor, jamais abandonas os que te buscam.*

Salmos 9:10

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1. <i>Gliricídia sepium</i> (Jacq.) Kunth ex Walp.	17
2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) em Leguminosas	18
2.3. Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas	20
2.4. Fungos Micorrízicos Arbusculares – FMA	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Delineamento Experimental	26
3.2 Preparo do solo e análises químicas e físicas.....	26
3.3 Origem das Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP's) e da estirpe padrão da gliricídia	27
3.4 Preparo dos inoculantes das estirpes de BPCP's	29
3.5 Inoculante Fúngico	29
3.6 Desinfestação das sementes de Gliricídia e quebra de dormência	30
3.7 Plantio e germinação das sementes de gliricídia	30
3.8 Colheita do experimento e análise das variáveis	30
3.9 Análise estatística.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5. CONCLUSÕES.....	48
6. REFERÊNCIAS	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas do solo Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, Goiana – PE	27
Tabela 2. Características físicas do solo Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, Goiana – PE.....	27
Tabela 3. Estirpes de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP's)	28
Tabela 4. Análise de variância para as características de crescimento e nutrição da gliricídia inoculada com <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's) na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)	32
Tabela 5. Comprimento de raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e relação MSR/MSPA (massa seca da parte aérea) da gliricídia inoculada com <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's).....	33
Tabela 6. Efeito do Fungo Micorrízico Arbuscular – FMA na massa seca da raiz (MSR), no nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (Nac) e na altura da gliricídia aos 60 DAP.....	34
Tabela 7. Massa seca dos nódulos (MSN); massa seca da parte aérea (MSPA); teor de P na MSPA; conteúdo de P (CP); alturas de plantas aos 90 e 120 dias após o plantio (DAP) da gliricídia inoculada com <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's)* na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA).	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeito da inoculação com FMA sobre o desenvolvimento e produção de massa seca na raiz (MSR) de plantas de gliricídia. <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801); <i>Paenibacillus brasiliensis</i> (24); <i>Actinomadura</i> sp.(183 – EL); <i>Paenibacillus graminis</i> (MC 04.21).	35
Figura 2. Efeito da inoculação com FMA sobre o desenvolvimento e produção de massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de gliricídia. TA (testemunha); <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) + <i>Actinomadura</i> sp.(183 – EL) – FMA; <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) + <i>Actinomadura</i> sp.(183 – EL) + FMA.	35
Figura 3. Efeito da inoculação com <i>Rhizobium</i> sp.(BR 8801) + BPCP's na presença e ausência de FMA, sobre a nodulação. <i>Azospirillum amazonense</i> (BR 11140); BR 11175 (<i>Herbaspirillum seropedicae</i>).	37
Figura 4. Análise de regressão para crescimento de mudas de gliricidia inoculadas com BPCP's + <i>Rhizobium</i> na presença e ausência de FMA.	42
Figura 5. Eficiência* das estirpes em gliricídia relacionadas aos tratamentos inoculados com <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801) e co-inoculadas com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's)* na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA).	44
Figura 6. Colonização Micorrizica (CM) das mudas de gliricídia inoculadas com <i>Rhizobium</i> sp. (BR 8801); bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).	46
Figura 7. Estruturas fúngicas nas raízes do tratamento inoculado com BR 8801 + BPCP (<i>Actinomadura</i> sp. – 183 EL) + FMA, visualizadas em microscópio (400x). Lâmina 54.3.	47

RESUMO

A *Gliricidia sepium*, Jacq., Kunth, Walp é uma árvore de porte médio, pertencente à família Leguminosae, que possui grande importância para a área comercial, devido as suas características de uso múltiplo. Muitas leguminosas arbóreas, tais como a gliricídia, são capazes de formar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que promovem maior absorção de nutrientes. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo altamente dependente de energia na forma de ATP. Portanto, a atividade dos FMAs beneficia esse processo por promoverem maior absorção de P pelas plantas. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) também podem contribuir para esse processo visto que também são capazes de solubilizar fosfatos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a nodulação e eficiência simbiótica da gliricidia pela tripla inoculação BPCPs - rizóbios - FMA, visando otimizar o processo da FBN. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com delineamento em blocos ao acaso, em arranjo fatorial 11 x 2 (+1). Os 11 (onze) níveis corresponderam à inoculação de 10 BPCP's inoculadas conjuntamente com rizóbio e um tratamento somente com rizóbio - na presença e ausência de FMA -, além de uma testemunha absoluta (controle - sem BPCP, FMA e rizóbio). Foram utilizados vasos preenchidos com 8 kg de solo (Argissolo Vermelho Amarelo distrófico) como unidade experimental. Na semeadura foi efetuada a inoculação com *Rhizobium* sp. (BR 8801) e co-inoculação com BPCP's + FMA. Aos 10 (dez) dias após o plantio (DAP) foi realizada uma reinoculação com *Rhizobium* sp.. Durante o desenvolvimento das plantas foi utilizada solução nutritiva sem adição de nitrogênio e fósforo. As variáveis avaliadas foram: altura de planta (AP) aos 30, 60, 90 e 120 DAP; massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e dos nódulos (MSN); relação MSR/MSPA; comprimento da raiz (CR); N total acumulado (Nac) na MSPA; teor de fósforo na MSPA; eficiência da estirpe (E), teor de fósforo (P), conteúdo de P e colonização micorrízica (CM). Os tratamentos demonstraram efeito significativo para todas as variáveis avaliadas. A adição de FMA aos tratamentos proporcionou melhores resultados para as variáveis estudadas, observando-se diferença significativa ($p < 0,05$) para os tratamentos co-inoculados com BPCP's e não significativa ($p > 0,05$) para o

tratamento inoculado com *Rhizobium* (BR 8801), na presença ou ausência de FMA. O tratamento BR 8801 + 183-EL + FMA promoveu a melhor resposta para a glicíndia.

Palavras-chave: *Gliricidia sepium*, nodulação, fixação de N₂, FMA, BPCP's.

ABSTRACT

Gliricidia sepium, Jacq., Kunth, Walp. is a medium-sized tree belonging to the Leguminosae family, and has great importance for the commercial area, due to its multiple use characteristics. Many leguminous trees, such as gliricidia, are able to form symbiosis with nitrogen-fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which promote better absorption of nutrients. The BNF is a highly dependent energy process in ATP form. AMF activity therefore benefits this process because these microorganisms promote greater P uptake by plants. Plant growth promoting bacteria (PGPB's) also can contribute to this process in them they are also able to solubilize phosphates. In this context, the work aimed to evaluate gliricidia's nodulation and symbiotic efficiency by triple inoculation of PGPB's - rhizobia - AMF, aiming to optimize BNF process. The experiment was performed in a greenhouse in randomized block design with 11 x 2 (+1) factorial arrangement. The 11 levels corresponded the inoculation of 10 PGPB's jointly inoculated with rhizobia and a rhizobia treatment independently - in presence and absence of AMF -, plus a control (control - no PGPB, AMF or rhizobia). Pots filled with 8 kg of soil (dystrophic Ultisol) were used as experimental unit. In the sowing was done the *Rhizobium* sp. (BR 8801) inoculation and co-inoculation with AMF + BPCP's. 10 days after sowing (DAS) re-inoculation was performed with *Rhizobium* sp. During plant growth, a nutrient solution without addition of nitrogen and phosphorus was used. The variables evaluated were: plant height (PH) at 30, 60, 90 and 120 DAS, shoot dry matter (SDM), root (RDM) and nodules (NDM); RDM / SDM ratio; root length (RL), total N accumulated (Nac) in SDM; phosphorus rate in SDM; efficiency of strain (E), phosphorus rate (P), P contents and mycorrhizal colonization (MC). Treatments showed significant effects for all variables. AMF addition in treatments promoted better results for the evaluated variables, observing significant difference ($p < 0.05$) for treatments with co-inoculation of BPCP's and no significant difference ($p > 0.05$) for treatment inoculated with *Rhizobium* (BR 8801), in presence or absence of AMF. BR 8801+EL-183+AMF treatment promoted the best response for gliricidia.

Keywords: *Gliricidia sepium*, nodulation, N₂ fixation, AMF, PGPB

1. INTRODUÇÃO

A *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp., pertencente à família Leguminosae e subfamília Faboideae, é uma árvore de porte médio, nativa do México e da América Central. No Brasil é vulgarmente conhecida como gliricídia, sendo também denominada como *madero negro*, *mata ratón* e *madre de cacao*, no México e em países da América Central (Simons e Stewart, 1994).

Cultivada em diversos países tropicais devido às suas características de uso múltiplo, pode ser explorada para produção de lenha, cerca-viva, quebra-vento, moirão vivo e forragem, sendo também considerada como ótima planta melífera (Allen e Allen, 1981; Drumond e Carvalho Filho, 1999). É uma espécie de grande importância para a área comercial, caracterizando-se como uma opção de espécie forrageira introduzida, que se adaptou muito bem às condições edafoclimáticas do semiárido brasileiro (Nobre, 2008).

Há muito tempo é plantada em sistemas de agricultura familiar como adubo verde para melhoria da fertilidade do solo e como produtora de forragem de alta qualidade (Nyoka et al., 2012). A sua utilização para o melhoramento da fertilidade dos solos é devido à capacidade de suas raízes formarem simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) (Franco, 1988). Essas bactérias são micro-organismos procarióticos conhecidos como diazotróficos, que podem ser de vida livre, associados a espécies vegetais, ou estabelecer simbiose e formar nódulos em leguminosas, tendo a função de fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Moreira et al., 2010b).

As bactérias diazotróficas associativas são consideradas rizobactérias promotoras de crescimento em plantas (RPCP's) e assumem papel importante na interação com raízes de plantas e ciclagem de nutrientes, entre outros. As RPCP são nativas nos solos ou plantas, e com isso não interferem no equilíbrio ecológico e se encaixam perfeitamente dentro da realidade da agricultura sustentável e orgânica. A atuação direta das RPCP's ocorre promovendo o crescimento em virtude da produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas como a 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção de nutrientes pelas raízes, entre outros (Lazarovitz e Nowak, 1997).

Existem diversas bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP's), todavia as principais são: *Pseudomonas* spp. não fluorescentes e

fluorescentes; espécies de *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Gluconacetobacter* e *Herbaspirillum*; espécies de *Agrobacterium radiobacter*, *Enterobacter cloacae* e *Burkholderia cepacia*, entre outras (Mariano et al., 2004). Essas bactérias quando associadas com plantas promovem um aumento expressivo da área da raiz, permitindo maior eficiência na absorção de água e nutrientes pelas plantas.

Promover a disponibilidade de elementos essenciais para as plantas é uma prática importante e fundamental para a agricultura e o uso de micro-organismos permite a promoção dessa disponibilidade (Freitas, 2007). A simbiose entre leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio revela, de acordo com Moreira et al. (2010b), o importante papel que os micro-organismos do solo desempenham na ciclagem de nutrientes.

Entre os organismos simbiontes presentes no solo merecem destaque, além das bactérias fixadoras de nitrogênio, também os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Juntos exercem papel significativo na funcionalidade e manutenção dos ecossistemas naturais manejados e principalmente degradados (Souza et al., 2006).

Existem diferentes tipos de bactérias do solo interagindo com FMA, particularmente na rizosfera. Em muitos casos, essas interações são sinérgicas (Smith e Read, 2008). Essas interações na rizosfera e seus efeitos nas propriedades do solo e no incremento do crescimento das plantas podem ter importantes implicações na agricultura e ecologia, contribuindo para a melhoria da estrutura do solo (Rillig e Mummey, 2006), bem como para o aumento da disponibilidade de nutrientes, podendo ser responsável por até 80% de absorção de fósforo em plantas (Balota et al., 2012).

Portanto, é importante avaliar precisamente tais interações e considerar as suas implicações na agricultura. Isso pode resultar em novas perspectivas para futuras pesquisas, levando a rápidos avanços no campo e estratégias agrícolas mais eficientes (Miransari, 2011), apresentando dessa forma, uma alternativa ao uso intensivo de fertilizantes químicos que cria um ambiente altamente seletivo e afeta negativamente a diversidade microbiana. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a nodulação e eficiência simbiótica da gliricídia pela tripla inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas – BPCP's x rizóbio x fungo micorrizico arbuscular (FMA), visando otimizar o processo da fixação biológica de nitrogênio.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.

A *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. é uma leguminosa arbórea nativa do México e América Central, amplamente difundida nos trópicos (Carvalho Filho et al., 1997). Árvore semi-decídua, pode atingir de 12 a 15 metros de altura, com flores reunidas em inflorescências axilares. Os frutos são vagens chatas, geralmente de cor verde pálido, de 10 a 17 cm de comprimento, contendo de três a oito sementes elípticas, achatadas, brilhantes, de coloração parda, clara a escura (Kiill e Drumond, 2001; Elevitch e Francis, 2006).

Quanto ao sistema de reprodução é uma espécie xenógama obrigatória, somente produz frutos e sementes após polinização cruzada (Kiill e Drumond, 2001). Propaga-se facilmente por sementes ou estacas, apresentando crescimento rápido e excelente capacidade de rebrota (Elevitch e Francis, 2006; Pereira Júnior et al., 2008).

Pode ser encontrada em regiões localizadas desde o nível do mar até 1.500 m de altitude, com precipitação variando entre 600 a 3.500 mm ao ano, chegando a suportar períodos de seca prolongados, em torno de oito meses (Elevitch e Francis, 2006), quando ocorre a queda de folhas dos ramos mais velhos. O seu crescimento é, no entanto, melhor em condições quentes e úmidas, sendo limitado por baixas temperaturas. Não são necessários solos férteis, todavia apresenta maior crescimento naqueles com alta fertilidade e profundidade suficiente para um bom enraizamento, que é um dos fatores determinantes para uma maior ou menor produção e manutenção de folhagem verde no período seco (Carvalho Filho et al., 1997).

Devido as suas características de uso múltiplo, a gliricídia pode ser considerada uma espécie de grande interesse econômico, principalmente para as regiões tropicais, onde é cultivada em diversos países. No Nordeste brasileiro vem sendo cultivada há vários anos, em especial na região cacauzeira da Bahia. Posteriormente foi introduzida nos estados de Pernambuco e Sergipe (Drumond e Carvalho Filho, 1999).

No Brasil é mais comumente utilizada para o sombreamento das culturas de café e cacau, assim como suporte nas plantações de baunilha (planta epífita). Também pode ser explorada para produção de lenha, cerca viva, quebra-vento,

moirão vivo e forragem (30% de proteína bruta). Além disso, é considerada como ótima planta melífera (Allen e Allen, 1981). Em relação à conservação dos solos, essa espécie é bem recomendada para o controle da erosão e a estabilização de terraços de rodovias, pois é resistente ao fogo, de fácil rebrota e alta sobrevivência (Pereira Júnior et al., 2008).

Barreto e Fernandes (2001) concluíram que a incorporação da biomassa da gliricídia e da leucena em solos de tabuleiros costeiros promove melhorias em características químicas ($\text{Ca}+\text{Mg}$ e pH) e físicas (densidade e macroporosidade), principalmente nas menores profundidades. A *Gliricidia sepium* tem sido plantada em propriedades rurais do Agreste paraibano graças à sua alta capacidade de produzir biomassa em condições de baixa disponibilidade hídrica, alta capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e alto conteúdo de fibra, proteínas e cálcio (Marin et al., 2006), tudo isso torna a gliricídia uma espécie promissora para produção de forragem e lenha em sistemas agrossilvipastoris ou silvipastoris no semiárido brasileiro.

2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) em Leguminosas

O nitrogênio (N) é um elemento químico presente abundantemente na atmosfera, em torno de 78%, na forma de nitrogênio molecular ou dinitrogênio (N_2). No entanto, na crosta terrestre é relativamente raro, com teor de 19 ppm (ou seja, 19 g em cada tonelada). Esse macroelemento está presente em diversos componentes celulares, entre eles, aminoácidos, proteínas, enzimas, ácidos nucleicos e clorofila. Reações bioquímicas fundamentais envolvem a atuação do N (Williams e Miller, 2001).

A maioria das plantas absorve o nitrogênio que está disponível no solo na forma de íon amônio (NH_4^+) e íon nitrato (NO_3^-) (Souza e Fernandes, 2006), dependendo do pH do solo e da forma que está em maior concentração na solução do solo. De forma geral, a planta absorve mais nitrogênio na forma de íon nitrato, pois a amônia formada pelo processo de decomposição da matéria orgânica do solo é logo convertida a nitrato por bactérias quimiossintetizantes. Em solos de pH muito ácido e altas concentrações de fenóis, a amônia não é oxidada, fazendo com que algumas plantas a absorvam nessa forma (Moreira e Siqueira, 2006).

Grande parte dos seres vivos não pode absorvê-lo na forma de N₂. Somente um pequeno número de procariontos é capaz de reduzir o N₂ para a forma combinada NH₃, tornando-o assimilável para as plantas e outros organismos. Esses organismos fixadores de N₂ ou diazotróficos são responsáveis pelo processo chamado de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (Reis e Teixeira, 2005; Moreira e Siqueira, 2006).

Essa fixação biológica só acontece porque uma pequena parcela das de bactérias fixadoras de N₂ ou diazotróficas, possui a enzima nitrogenase, que tem a capacidade de reduzir N₂ para a forma inorgânica combinada NH₃, que dessa forma, tornar-se disponível para plantas e outros micro-organismos. Em resposta, as plantas fornecem como fonte de energia para essas bactérias, carboidratos. As bactérias fixadoras de N₂ coexistem em simbiose ou não nas raízes de plantas (Lodeiro et al., 2000; Moreira e Siqueira, 2006; Bomfeti et al., 2011).

Vários grupos taxonômicos de procariontes possuem a capacidade de fixação biológica do N₂, com altas diversidades fisiológicas, morfológicas, genéticas e filogenéticas (Moreira e Siqueira, 2006). Há uma diversidade muito grande de bactérias nativas fixadoras de nitrogênio e muitas vezes essa fixação acontece com baixo grau de eficiência, sendo necessária a obtenção de estirpes de rizóbios com capacidade de sobreviver e competir por uma eficiente fixação de nitrogênio atmosférico na planta-alvo (Moawad et al., 1998).

Até 2001 acreditava-se que as únicas bactérias fixadoras de N₂ capazes de formar nódulos nas leguminosas se restringiam apenas a classe de α -proteobactérias, que incluem os seguintes gêneros: *Rhizobium*, *Ensifer* (*Sinorhizobium*), *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*. Todavia, alguns autores constataram que as bactérias dos gêneros *Burkholderia* e *Cupriavidus* (*Ralstonia*) são pertencentes à classe β -proteobactérias e também são capazes de formar nódulos e fixar N₂ em leguminosas. Além disso, outros gêneros e famílias da ordem Rhizobiales (α -proteobactérias) foram descritas como bactérias fixadoras de N₂ (BFN) capazes de estabelecer simbiose com leguminosas: *Devosia*, *Phyllobacterium*, *Methylobacterium*, *Ochrobactrum* e *Shinella* (Bomfeti et al., 2011).

Esses estudos permitiram um grande avanço na área de microbiologia do solo e, conseqüentemente, no uso de tecnologias e práticas sustentáveis, pois a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), capazes de

estabelecer simbiose com leguminosas, permite a constante diminuição no uso de fertilizantes nitrogenados. Segundo Galloway et al. (2008), só a agricultura é responsável pela adição da maior parte do N reativo no solo e na água. Aproximadamente 70% de todo o N utilizado pela agricultura é fornecida a partir de fertilizantes derivados do processo Haber-Bosch, o restante é oriundo da FBN.

A FBN é realizada por bactérias denominadas α e β rizóbios que promovem alta sustentabilidade aos ecossistemas. Seu manejo como uma fonte de biotecnologia visa ao aumento da produtividade das culturas (Bomfeti et al., 2011).

Portanto, a associação de leguminosas e BFN em sistemas agrícolas oferece uma variedade de processos ecológicos que colaboram para o aumento da biodiversidade e da matéria orgânica do solo, e para a redução da erosividade (Biabani et al., 2011). Permitindo, assim, o estabelecimento de uma agricultura sustentável, cuja produção de alimentos ou o uso da terra, em geral, possa ser de forma produtiva, de qualidade, com equilíbrio e preservação de todo o sistema ecológico.

2.3. Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas

As bactérias são os organismos mais antigos da Terra. Os primeiros a aparecer na superfície terrestre foi há cerca de 3,5 bilhões de anos, segundo a teoria da biogênese. Elas atuaram disponibilizando oxigênio na atmosfera e reduzindo as concentrações de CO₂, permitindo a colonização de novos organismos. Por isso podem ser encontradas em quase todos os ambientes e serem consideradas os seres vivos mais abundantes do planeta (Silva e Nishida, 2012).

Bactérias são procariontes, unicelulares com tamanho microscópico, medindo de 0,2 a 1,5 μ m de comprimento (Ketylen, 2011). Elas possuem papel fundamental na manutenção da vida e do equilíbrio dos ecossistemas, atuando como decompositoras, fixadoras de nitrogênio, nitrificantes, amonificantes e desnitrificantes.

Além dessas atuações, já são conhecidas há muito tempo, bactérias que aumentam o crescimento e a produtividade das plantas (Mafia et al., 2005). As

Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas – BPCP's, são encontradas em habitats naturais, colonizando o interior e exterior de órgãos de plantas. Constituem parte da população residente das plantas, como epifíticas ou endofíticas, e não são fitopatogênicas (Mariano et al., 2004). Proeminente entre esses organismos são as espécies do gênero *Rhizobium* (Djordjevic et al., 1987), cujo uso prático e potencial para o aumento da produção vegetal é bem conhecido na agricultura (O'gara et al., 1995).

No interior das plantas a bactéria encontra um habitat rico em substratos de carbono, imune de fatores adversos ao desenvolvimento das populações de bactérias no solo e rizosfera, podendo transferir eficientemente os compostos nitrogenados produzidos para a planta por estarem livre de competição com outros micro-organismos (Neves et al., 1985).

As BPCP's, quando associadas com plantas, promovem um aumento considerável da raiz, oferecendo a planta maior eficiência na absorção de água e elementos essenciais (Mariano et al., 2004). Elas representam uma grande variedade de bactérias de solo. As diazotróficas dos gêneros *Azoarcus*, *Arthrobacter*, *Gluconacetobacter*, *Serratia*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, e *Paenibacillus*, são as principais BPCP's usadas para promover o crescimento de várias culturas (Reiter et al., 2003; Beneduzi et al., 2013).

Essas bactérias podem ser usadas no tratamento de sementes, explantes e mudas micropropagadas, e, ao mesmo tempo, serem incorporadas ao substrato para plantio. Podem ainda ser utilizadas no tratamento de estacas, tubérculos e raízes, assim como para pulverizações na parte aérea, sendo também utilizadas em pós-colheita (Mariano et al., 2004).

Sabe-se que a indução de absorção de nutrientes e os maiores desenvolvimentos radiculares ocasionados pelas BPCP's e seus metabólitos estimulam o crescimento das plantas, de forma direta ou indireta (Lugtenberg et al., 2002; Persello-Cartieaux et al., 2003; Lacava et al., 2008). A estimulação indireta ocorre quando a BPCP previne os efeitos deletérios de micro-organismos fitopatogênicos, enquanto a estimulação direta de crescimento da planta ocorre quando a BPCP sintetiza algumas substâncias de crescimento para a planta ou facilita a absorção de certos nutrientes. A estimulação direta envolve a fixação de nitrogênio (realizada por organismos diazotróficos), a solubilização de fosfato, a produção de fitormônio (tais como auxina e

citocininas), e a produção de sideróforos que ajuda no transporte de ferro férrico nas células vegetais (Ghosh et al., 2003; Farina et al., 2012).

Várias pesquisas têm demonstrado que o ácido indolacético (AIA) é um regulador da modulação da raiz e da arquitetura da parte aérea da planta, tendo também um efeito sobre o número de raízes laterais e pelos radiculares, assim como sobre o crescimento de brotos e folhas (Ortíz-Castro et al., 2009; Ali et al., 2010). Outros trabalhos também relataram os efeitos positivos na nodulação através da coinoculação de rizóbio com outras espécies de bactérias (Stamford et al., 2003; Silva et al., 2007; Figueiredo et al., 2008; De Araújo et al., 2010).

Uma forma de provar a eficiência das BPCP's é quando em condições reais de cultivo ela pode colonizar o sistema radicular da planta hospedeira e ao mesmo tempo competir com as bactérias nativas dos mais variados tipos de solos (Freitas, 2001). A presença de um micro-organismo em determinado solo é função das condições ambientais dominantes e dos limites da sua bagagem genética. Limitações físicas e químicas aos micro-organismos podem ocorrer nos solos, mas muitas espécies são capazes de se adaptar a essas condições (Moreira et al., 2010a).

Beneduzi et al. (2013), avaliando as bactérias isoladas a partir da cana-de-açúcar cultivada no Sul do Brasil, observou que o pH e a argila foram os principais fatores do solo que afetaram diretamente a diversidade de seis diferentes populações de bactérias diazotróficas, enquanto a matéria orgânica do solo foi menos relacionada a diversidade bacteriana. O pH do solo é conhecido por ter um efeito considerável sobre as atividades das comunidades microbianas e dos processos biogeoquímicos.

Esses processos também podem ser afetados pelo uso excessivo de fertilizantes químicos e pesticidas. Uma alternativa para diminuir esses excessos é, de acordo com Ahmad et al. (2008), o uso de micro-organismos como fonte de tecnologia limpa, atuando como biofertilizantes e agentes de controle biológico.

É necessário uma expansão do uso de inoculantes, mas para isso é preciso desenvolver um conceito amplo, estruturado e com metodologia apoiada em argumentos científicos. Dessa forma, é possível avaliar a utilização dos novos produtos biológicos na agricultura (Araujo et al., 2012). O mercado de bioinoculantes está se expandindo, mas é preciso direcionar e intensificar as pesquisas para que esse mercado possa ter sustentabilidade.

Portanto, o conhecimento e a utilização de BPCP's, visando ao aumento da produção agrícola, será, num futuro bem próximo, uma das alternativas mais importantes no mundo atual. Isso se deve, em especial, à necessidade emergente de diminuir a dependência de fertilizantes químicos e promover o desenvolvimento de uma agricultura sustentável (Moreira e Siqueira, 2006).

2.4. Fungos Micorrízicos Arbusculares – FMA

Todos os fungos pertencentes ao filo Glomeromycota são conhecidos por formarem micorrizas arbusculares. No passado, em 1990, sem o benefício de aspectos moleculares, os fungos formadores de micorrizas arbusculares foram organizados em três famílias (*Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae*, e *Glomeraceae*) e seis gêneros (*Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, e *Scutellospora*) dentro de uma ordem, filo *Glomeromycota* do filo *Zygomycota*. No entanto, essa classificação foi baseada na morfologia dos esporos e nas características de formação de esporos (acaulosporoide, entrofosporoide, gigasporoide, glomoide, radial glomoide, scutellosporoide). Atualmente são reconhecidas três classes (*Archaeosporomycetes*, *Glomeromycetes*, e *Paraglomeromycetes*), 5 ordens (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Gigasporales*, *Glomerales* e *Paraglomerales*), 14 famílias, 29 gêneros e cerca de 230 espécies (Oehl et al., 2011).

O processo de estudo dos fungos e sua posterior classificação só ocorreu após a descoberta dos fósseis do segundo período da Era Paleozóica, Ordoviciano, há aproximadamente 460 milhões de anos atrás, revelando a possível origem da simbiose de plantas superiores - fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Nesse período foi encontrado o registro fóssil mais antigo de esporos de fungos e hifas similares aos atuais glomeromicetos, e a flora estava possivelmente no nível evolutivo das briófitas (Redecker et al., 2000), indicando a origem ancestral tanto dos fungos quanto da simbiose (Souza et al., 2008). Entende-se, que tais fungos tiveram papel fundamental na conquista de ambientes terrestres pelas plantas.

Existe outra hipótese aceita para o surgimento da simbiose micorrízica que vem da relação mutualística observada entre fungos e cianobactérias. O fungo *Geosiphon pyriformis* e cianobactérias possuem uma relação ecológica

(interna) em que ambos se beneficiam, formando uma endossimbiose. Esse fungo, em especial, tem morfologia, estrutura e função próximas às dos FMA, em relação ao fornecimento de fósforo e ao importante papel desse elemento, dentro de todo o sistema simbiótico (Berbara et al., 2006).

De acordo com Moreira e Siqueira (2006), durante o longo processo evolutivo os micro-organismos adquiriram algumas adaptabilidades e características para coexistirem com diferentes seres vivos, permitindo o estabelecimento de diversas relações em forma e função. Uma relação simbiótica estável, como se verifica nas micorrizas, só foi possível através de mecanismos de reconhecimento, tropismo e tactismo, pois devido à luta pela sobrevivência, fungos e plantas desenvolveram a capacidade de se comunicarem molecularmente.

Considera-se a associação micorrízica como simbiótica, porque os organismos coexistem em um mesmo ambiente físico - raiz e solo - e mutualístico, por ambos os simbiossiontes, geralmente se beneficiarem da associação. Essa associação também é considerada como mutualista nutricional, porque a planta supre as necessidades do fungo com energia para o crescimento e a manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo proporciona à planta nutrientes e água. Nesse caso, o fator benéfico principal para a planta é o micélio externo do fungo, que permite maior capacidade de absorção dos nutrientes, principalmente os poucos móveis como o fósforo (P), em virtude da extensão da rede de hifas que o fungo pode formar. Portanto, diversos processos são mediados pelos microssimbiossiontes e esse tipo de simbiose permite a ampliação da capacidade de absorção de nutrientes, por parte do simbiossionte autotrófico e, conseqüentemente, a sua competitividade interespecífica e produtividade (Alarcón e Ferrera-Cerrato, 1999; Berbara et al., 2006; Moreira et al., 2010a).

A simbiose só ocorre porque o fungo produz hifas intra e extra radiculares capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los ao ambiente radicular, onde são absorvidos. Dentro do espaço intra radicular acontece a troca bidirecional, através de estruturas presentes no córtex radicular, semelhantes a um haustório bastante ramificado, os arbúsculos. Essas estruturas, formadas pela interação de hifas de FMA e a plasmalema de determinadas células do córtex, são a peça fundamental para o estabelecimento da simbiose micorrízica

e sua formação depende da completa interação genética e funcional entre as combinações fungo-planta (Harrison, 1999).

Outro ponto importante é que os FMA dependem do hospedeiro para sua própria existência, tornando a simbiose essencial para esses fungos. Durante o período de sua evolução, esses organismos perderam sua capacidade de fixar C, e, por isso, dependem exclusivamente das plantas como fonte de compostos orgânicos, passando para uma condição de simbiote obrigatório (Gadkar et al., 2001; Berbara et al., 2006). No entanto, para as plantas a situação é bem diferente, pois elas podem ser classificadas quanto à dependência micorrízica em facultativas, obrigatórias ou não-micorrízicas (Smith e Read, 2008). A dependência micorrízica da planta muda de acordo com a espécie de fungo colonizada. Portanto, para a mesma planta, podemos ter respostas levemente negativas até altamente positivas (Sieverding et al., 1991). Berbara et al. (2006), afirma que as micorrizas são associações simbióticas, porém nem todas mutualistas.

Os FMA são um dos simbiotes microbianos mais importantes para a maioria das plantas. Eles podem também atuar como bioprotetores contra agentes patogênicos em condições ambientais adversas (Pérez et al., 2012).

Podem ser encontrados em quase 80% das raízes das plantas vasculares. Atualmente a grande maioria das angiospermas e muitas gimnospermas, pteridófitas e briófitas formam associação com FMA. Essa associação é considerada um exemplo clássico de mutualismo - simbiose (Smith e Read, 2008; Sundram et al., 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Sede do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, em vasos com 8 kg de solo classificado como Argissolo Vermelho Amarelo distrófico (EMBRAPA, 2006). O solo foi coletado a uma profundidade de 0 - 20 cm, na Estação Experimental do IPA de Itapirema, Goiana - PE, localizada na BR 101 Norte, km 53, na latitude de 07 ° 34' 00" S e longitude de 35 ° 00' 00" W, a uma altitude de 13 m ((Embrapa) Monitoramento por Satélite, s.d).

3.1 Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com arranjo fatorial 11 x 2 (+1). Os 11 (onze) níveis corresponderam à inoculação de 10 BPCP's inoculadas conjuntamente com rizóbio, um tratamento somente com rizóbio - na presença e ausência de FMA- e uma testemunha absoluta (controle - sem BPCP, FMA e rizóbio), em um total de 23 tratamentos com três repetições, totalizando 69 vasos.

3.2 Preparo do solo e análises químicas e físicas

Após secagem ao ar, o solo foi peneirado (2,0 mm de diâmetro crivo de malha) e homogeneizado, retirando-se amostras do solo para análise no Laboratório de Fertilidade e Física do Solo do IPA para determinação das características físicas e químicas (Tabelas 1 e 2) de acordo com a metodologia recomendada pela (EMBRAPA, 1997). Posteriormente o solo foi autoclavado por uma hora, a uma temperatura de 120°C e pressão de 101 KPa, em intervalos de 24 horas, por três dias consecutivos.

Tabela 1. Características químicas do solo Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, Goiana – PE

Profundidade	P	pH	Ca	Mg	Na	K	Al	H	S	CTC	V	M
0-20 cm	mg/dm ³	H ₂ O	cmolc/ dm ³									
											%	
	16	6,3	1,50	1,20	0,02	0,03	0,0	2,97	2,8	5,7	48	0

S: soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V: Saturação por bases; M: Saturação por alumínio

Tabela 2. Características físicas do solo Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, Goiana – PE

Profundidade	Granulometria (%)				Classe Textural	Umidade Residual	Ds*	Dp**
	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Areia Franca	%	g/cm ³	
0-20 cm	58	26	4	12		0,90	1,63	2,61

*Densidade do solo (ds), **Densidade da partícula (dp).

3.3 Origem das Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP's) e da estirpe padrão da glicíndia

Para inoculação da glicíndia foi usada a estirpe padrão de rizóbio SEMIA 6168 (BR 8801), proveniente da EMBRAPA - CNPAB - Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia recomendada pelo MAPA – Secretaria de Defesa Agropecuária – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2011), além de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP's), listadas na Tabela 3.

Tabela 3. Estirpes de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP's)

Bactéria (Espécie)	Origem	Identificação	Procedência
<i>Bacillus subtilis</i>	Mosto de fermentação da cana-de-açúcar (oriundo de usinas da Zona da Mata de Pernambuco)	438	Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos (UFPEDA)
<i>Bacillus subtilis</i>	Mosto de fermentação da cana-de-açúcar (oriundo de usinas da Zona da Mata de Pernambuco)	454	Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos (UFPEDA)
<i>Bacillus pumillus</i>	Mosto de fermentação da cana-de-açúcar (oriundo de usinas da Zona da Mata de Pernambuco)	445	Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos (UFPEDA)
<i>Paenibacillus graminis</i>	Rizosfera de milho (<i>Zea mays</i> L.) - solo do Cerrado	MC 04.21	Instituto de Microbiologia da UFRJ
<i>Paenibacillus brasilensis</i>	Rizosfera de milho (<i>Zea mays</i> L.) - solo do Cerrado	24	Instituto de Microbiologia da UFRJ
<i>Actinomadura</i> sp.	Rizosfera da caatinga pernambucana	183- EL	Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos (UFPEDA)
<i>Azospirillum amazonense</i>	Raízes das plantas <i>Hypparrenia rufa</i>	BR 11140	Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	Raízes das plantas de arroz	BR 11175	Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB)
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Raízes das plantas de cana-de-açúcar	BR 11284	Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB)
<i>Burkholderia tropica</i>	Raízes das plantas de cana-de-açúcar	BR 11364	Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB)

3.4 Preparo dos inoculantes das estirpes de BPCP's

Para a produção dos inoculantes as estirpes foram purificadas e repicadas em quadruplicatas em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL dos meios específicos para cada bactéria. A concentração de bactérias utilizada foi de 10^8 UFC mL⁻¹.

A estirpe de *Rhizobium sp.* foi repicada para o meio YMA (Agar, manitol e extrato de levedura), utilizando-se o indicador vermelho do congo, segundo Vincent (1970), e incubada por 2 dias. Em seguida, a estirpe foi repicada para o meio líquido YM (Manitol e extrato de levedura) e incubada por 48 horas, a uma temperatura de 28 °C, sob agitação mecânica de 200 rpm (rotações por minuto). As estirpes de *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus brasilensis* e *P. graminis* foram repicadas para o meio líquido TSB (Trypticase soy broth) e incubadas por 24 horas e 48 horas, respectivamente, a 31 °C e 200 rpm. Já a estirpe *Actinomadura sp.* foi crescida em meio líquido AY (Arginina e extrato de levedura), durante um período de 48 horas a 31 °C e 200 rpm.

As estirpes de *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica* estavam armazenadas em tubos de ensaio com meio batata e batata-P (Döbereiner, 1999). As referidas bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS, por um período de 48 horas a 31°C e 200 rpm.

3.5 Inoculante Fúngico

O inoculante de FMA utilizado consistiu de uma mistura de solo, esporos e raízes colonizadas com os fungos micorrízicos *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*, *Scutelospora sp.* e *Acaulospora sp.* Cada tratamento com FMA recebeu 3g de propágulo contendo aproximadamente 598 esporos. As espécies foram identificadas de acordo com Silva (2012) consultando Schenck e Perez (1988), a home-page da International Culture Collection for Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM – <http://invam.caf.wvu.edu>) e publicações com descrição de novas espécies.

3.6 Desinfestação das sementes de Gliricídia e quebra de dormência

Nas sementes de gliricídia, provenientes da Associação de Agricultura Familiar e Agroecologia (AS-PTA/PB), foram realizados os seguintes procedimentos: desinfestação superficial e quebra de dormência. O primeiro foi realizado da seguinte forma: as sementes foram imersas em álcool a 70%, por 30 segundos, e novamente 30 segundos em hipoclorito de sódio a 2%, e posteriormente foram lavadas 7 (sete) vezes com água destilada autoclavada (Vincent, 1970). O segundo foi realizado colocando as sementes em um recipiente esterilizado com água destilada esterilizada, durante um período de 48h, com troca da água após 24h (Drumond e Carvalho Filho, 1999).

3.7 Plantio e germinação das sementes de gliricídia

No plantio foram utilizadas seis sementes por vaso, e cada semente foi inoculada com 1 mL do meio específico para cada BPCP's e *Rhizobium* sp. contendo 10^8 UFC mL⁻¹. A germinação ocorreu cinco dias após o plantio. Dez dias após a germinação foi feito o desbaste, deixando apenas três plantas por vaso. Nessa ocasião foi realizada uma reinoculação com 1 mL do meio específico da bactéria *Rhizobium* sp. contendo 10^8 UFC mL⁻¹. Durante o desenvolvimento das plantas foi utilizada a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), modificada conforme Silveira et al. (1998), sem adição de nitrogênio e fósforo, aplicada semanalmente (2mL kg⁻¹ solo⁻¹). O solo foi fertilizado com cloreto de potássio (KCl), na proporção de 0,02875g kg⁻¹ solo⁻¹.

3.8 Colheita do experimento e análise das variáveis

Os dados de altura das plantas (AP) foram coletados aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio, quando foi realizada a colheita para avaliação dos demais parâmetros: massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca da raiz (MSR) e dos nódulos (MSN); relação MSR/MSPA; comprimento da raiz (CR); nitrogênio acumulado (Nac) na MSPA; teor de fósforo (P) na MSPA; conteúdo de P; eficiência da estirpe (E); eficiência da fixação de N₂ (EFN₂) e colonização micorrízica (CM).

Para procedimento de avaliação da MSPA e MSR, a parte aérea e as raízes das plantas foram pesadas após secagem em estufa de circulação forçada a 65°C, durante 72 horas. O nitrogênio acumulado na MSPA foi calculado utilizando-se a expressão: $MSPA \times (\%N/100) \times 1.000$ segundo o método de Kjeldahl (Bremner, 1965); o teor de fósforo na MSPA foi determinado pelo método da Embrapa (Silva, 2009); o conteúdo de P foi calculado pela fórmula: $MSPA \times \text{teor de P}$; a eficiência da estirpe (E) foi avaliada segundo Faria e Franco (2002a); a eficiência da fixação de N_2 (EFN_2) foi determinada pela expressão: Nac/MSN ; a Determinação da colonização micorrízica (CM), inclusive nos tratamentos sem FMA, foi realizada pelo método da lâmina (Giovannetti e Mosse, 1980), sendo os resultados avaliados conforme a classificação apresentada por Carneiro et al. (1998), em que a colonização micorrízica é considerada alta quando maior que 50%, média quando variando de 20 a 50%, e baixa quando menor que 20%.

3.9 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT 7.5. Para o crescimento da gliricídia em função do tempo realizou-se análise de regressão tendo como critério de escolha a magnitude do coeficiente de determinação (R^2).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve ação conjunta da inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP's) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) para as variáveis: massa seca da parte aérea (MSPA); massa seca dos nódulos (MSN); teor de fósforo (P); conteúdo de fósforo (CP); eficiência da fixação de N₂ (EFN₂); altura da planta aos 90 (ALT90) dias após o plantio (DAP) e altura da planta aos 120 (ALT120) DAP (Tabela 4). Desta forma, foram observados que a inoculação de BPCP e FMA promoveu efeito significativo pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) para o crescimento e a absorção de nutrientes pela gliricídia.

Em relação aos efeitos isolados das BPCP's e do FMA, as variáveis que tiveram efeitos significativos pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) foram: massa seca da raiz (MSR), comprimento da raiz e a razão (MSR / MSPA) para BPCP's, e para FMA: nitrogênio acumulado na MSPA (Nac), altura da planta aos 60 (ALT60) DAP e MSR. A variável altura da planta aos 30 (ALT30) DAP não sofreu efeito dos inoculantes (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de variância para as características de crescimento e nutrição da gliricídia inoculada com *Rhizobium* sp. (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's) na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

FV	GL	MSR	MSPA	MSN	CR	MSR/MSPA	P	Conteúdo P	EFN ₂	Nac	30	60	90	120
BPCP	10	1,23**	3,45 ^{ns}	0,01 ^{ns}	160,73*	0,1*	19,81*	0,00074 ^{ns}	124,01 ^{ns}	7710,52 ^{ns}	2,44 ^{ns}	3,39 ^{ns}	16,68*	46,66 ^{ns}
FMA	1	541,34**	1753,27**	1,45**	68,02 ^{ns}	0,9 ^{ns}	702,03*	0,28277**	20836,79**	2221442,29**	0,03 ^{ns}	25,66*	2343,71**	13563,6**
BPCPxFMA	10	0,43 ^{ns}	10,57**	0,02**	100,70 ^{ns}	0,14 ^{ns}	10,79*	0,00145**	191,50**	13359,21 ^{ns}	2,70 ^{ns}	3,11 ^{ns}	28,82**	133,16**
Fat x TA	1	27,68**	124,26**	0,10**	12,18 ^{ns}	6,5**	11,36*	0,01637**	1297,47**	173504,86**	0,38 ^{ns}	17,47*	204,89**	1185,43**
Tratamentos	22	26,62**	91,72**	0,08**	122,47 ^{ns}	0,43 ^{ns}	46,34*	0,01459**	1149,52**	118438,38**	2,35 ^{ns}	4,92 ^{ns}	136,53**	752,15**
Blocos	2	0,58 ^{ns}	9,74*	0,001 ^{ns}	635,18 ^{ns}	0,17 ^{ns}	2,59 ^{ns}	0,00128 ^{ns}	279,34*	55134,30**	1,24 ^{ns}	2,91 ^{ns}	15,48 ^{ns}	394,69**
Resíduos	44	0,36	2,39	0,004	61,31	0,25	0,89	0,00042	64,19	7,031	3,43	3,80	7,96	36,09
CV (%)		14,38	22,11	36,07	18,73	63,89	11,17	26,60	39,39	32,22	15,03	11,38	11,25	15,81

** significativo ($p < 0,01$); * significativo ($p < 0,05$); ns, não significativo.

Massa seca da raiz (MSR); Massa seca da parte aérea (MSPA); Massa seca dos nódulos (MSN); Comprimento da raiz (CR); Fósforo (P); Eficiência da fixação de nitrogênio; (EFN₂) Nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (Nac); Altura de planta aos 30 dias (ALT30); Altura de planta aos 60 dias (ALT60); Altura de planta aos 90 dias (ALT90); Altura de planta aos 120 dias (ALT120).

FV: Fontes de variação; GL: Graus de liberdade; Fat: Fatorial; TA: Testemunha absoluta; CV: Coeficiente de variação.

As variáveis comprimento da raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e relação MSR/MSPA (massa seca da parte aérea) foram significativas apenas para o fator BPCP, não sendo observado diferença significativa ($p < 0,05$) para o fator presença e ausência de FMA. Desta forma, considerou-se os tratamentos com FMA como repetição dos tratamentos inoculados apenas com BPCP's e rizóbio, realizando-se médias aritméticas dos seus valores (Tabela 5).

Dentre os tratamentos estudados para a variável comprimento da raiz (CR), 6 (seis) obtiveram as melhores médias e não diferenciaram-se entre si ($p < 0,05$). Dentre eles o que se destacou foi o tratamento inoculado com: *Rhizobium* sp. (BR 8801) + BPCP (*Azospirillum amazonense* - BR 11140) com maior média. A menor média para esta variável foi observada no tratamento inoculado com BR 8801+ BPCP (*Herbaspirillum seropedicae* - BR11175) (Tabela 5).

Na variável MSR os tratamentos que obtiveram as melhores médias foram os inoculados com: *Rhizobium* sp. (BR 8801); BR 8801 + BPCP (*Bacillus pumillus* - 445) e BR 8801 + BPCP (*Gluconacetobacter diazotrophicus* - BR 11284). Já a relação MSR/MSPA, mesmo sendo significativa para o fator BPCP's, entre os tratamentos não houve diferença (Tabela 5).

Tabela 5. Comprimento de raiz (CR), massa seca da raiz (MSR) e relação MSR/MSPA (massa seca da parte aérea) da glirícidia inoculada com *Rhizobium* sp. (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's)

BPCP*	CR	MSR	MSR/MSPA
Tratamento*	(cm)	(g vaso ⁻¹)	
BR 8801+24 ¹	47,50 a	3,99 b	0,71 a
BR 8801+BR11140 ²	48,67 a	4,29 b	0,66 a
BR 8801+BR11284 ³	36,67 b	4,77 a	0,73 a
BR 8801+BR 11364 ⁴	38,33 b	3,74 b	0,96 a
BR 8801+MC 04.21 ⁵	47,75 a	4,13 b	0,74 a
BR 8801+183-EL ⁶	39,83 b	4,08 b	0,60 a
BR 8801+445 ⁷	41,92 a	4,91 a	0,58 a
BR 8801+454 ⁸	35,33 b	4,13 b	0,78 a
BR 8801+438 ⁹	45,83 a	3,95 b	0,68 a
BR 8801+BR11175 ¹⁰	34,92 b	4,13 b	0,73 a
BR 8801 ¹¹	44,08 a	5,19 a	0,63 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

*1:24 (*Paenibacillus brasiliensis*); 2: Y2: BR 11140 (*Azospirillum amazonense*); 3: PAL5: BR 11284 (*Gluconacetobacter diazotrophicus*); 4: BR 11364 (*Burkholderia tropica*); 5: MC 04.21 (*P. graminis*); 6: 183-EL (*Actinomadura* sp); 7: 445 (*Bacillus pumillus*); 8: 454 (*Bacillus subtilis*); 9: 438 (*Bacillus subtilis*); 10: Z67 BR 11175 (*Herbaspirillum seropedicae*); 11: BR 8801 (*Rhizobium* sp.).

O fator FMA foi significativo pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,01$) para as variáveis MSR e nitrogênio acumulado (Nac) na MSPA. Para a variável altura da planta aos 60 (ALT 60) DAP a significância foi ao nível de 5%. A análise dos dados comprova que os tratamentos inoculados com FMA promoveram médias aproximadamente cinco vezes maiores quando comparados aos não inoculados para MSR. O mesmo foi observado para a variável Nac, que acumulou cinco vezes mais nitrogênio do que as plantas sem FMA. Para a variável ALT 60 a diferença não foi tão expressiva (Tabela 6). Silva (2012), observou que a inoculação conjunta de bactérias e FMA em mudas de sabiá, aumentou em aproximadamente quatro vezes o valor do Nac. Na Figura 1 é possível observar a diferença na produção de MSR entre os tratamentos inoculados com e sem FMA, e na Figura 2 observamos a produção de MSPA para o tratamento inoculado com BR 8801 + BPCP- (*Actinomadura* sp. 183 – EL) + FMA na presença e ausência de FMA.

Tabela 6. Efeito do Fungo Micorrízico Arbuscular – FMA na massa seca da raiz (MSR), no nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (Nac) e na altura da gliricídia aos 60 DAP

FMA	MSR (g vaso ⁻¹)	Nac (mg N vaso ⁻¹)	ALT 60 (cm)
Com	7,16 a	454,43 a	17,86 a
Sem	1,44 b	87,50 b	16,61 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Colunas – letras minúsculas.



Figura 1. Efeito da inoculação com FMA sobre o desenvolvimento e produção de massa seca na raiz (MSR) de plantas de gliricídia. *Rhizobium* sp. (BR 8801); *Paenibacillus brasiliensis* (24); *Actinomadura* sp. (183 – EL); *Paenibacillus graminis* (MC 04.21).



Figura 2. Efeito da inoculação com FMA sobre o desenvolvimento e produção de massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de gliricídia. TA (testemunha); *Rhizobium* sp. (BR 8801) + *Actinomadura* sp. (183 – EL) – FMA; *Rhizobium* sp. (BR 8801) + *Actinomadura* sp. (183 – EL) + FMA.

A inoculação conjunta de micro-organismos benéficos às plantas é uma estratégia para melhorar o crescimento vegetal. Essa melhoria pode se dar pelo maior fornecimento de nutrientes para as plantas – onde a atuação do FMA promoveria maior absorção de fósforo e o *Rhizobium* sp. de nitrogênio - ou pela estimulação do crescimento devido à secreção de hormônios pelas BPCP's (Mariano et al., 2004).

Observou-se que a inoculação de FMA no solo promoveu diferença significativa ($p < 0,01$) para MSN, MSPA, conteúdo de P, EFN_2 , altura da planta aos 90 e 120 dias, assim como para teor de P ($p < 0,05$), atestando assim, seu efeito benéfico no crescimento vegetal. Contudo, a co-inoculação de BPCP's+ *Rhizobium* sp. (BR 8801), ao contrário do esperado, promoveu diminuição dos valores médios em relação ao tratamento somente inoculado com *Rhizobium* sp. (BR 8801), quando não foi aplicado conjuntamente o FMA. De certo modo, a aplicação do *Rhizobium* sp. (BR 8801) com BPCP's interferiu no crescimento e na nutrição da gliricídia (Tabela 7).

A análise dos dados referente à variável MSN, revelou que na ausência do FMA o tratamento inoculado com (*Rhizobium* sp. - BR 8801), diferiu significativamente dos demais ($p < 0,01$). Quando FMA foi inoculado ao solo, todos os tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,01$) quanto à nodulação. A inoculação da estirpe padrão de rizóbio com BPCP's na ausência do FMA, diminuiu a nodulação. Os nódulos formados foram inexpressivos quanto a sua eficiência de fixação de N_2 , devido à massa e número reduzidos, como observado na Figura 3.

O tamanho e a morfologia de nódulos devem ser considerados quando se discute a sua atividade e eficiência potencial. Pois mesmo os nódulos maiores que 4 mm de tamanho com elevado valores de massa seca não apresentaram alto teor de atividade do nódulo ou leghemoglobina no momento da medição. Além disso, nódulos indeterminados têm regiões meristemáticas e o volume de tecido eficaz por nódulo é menor do que naqueles determinados. Como resultado, a atividade da enzima nitrogenase nos rizóbios pode ser subestimada nos nódulos indeterminados (Sanchez-Diaz et al., 1990; Patreze e Cordeiro, 2004).

Oliveira et al. (2012) estudando a ação de FMA e rizóbio no enraizamento de mudas de angico vermelho, concluíram que os nódulos encontrados no estudo eram pequenos e apresentavam baixa massa de matéria seca. Segundo os autores isso ocorreu provavelmente porque a interação entre planta e micro-organismo estava no início, com pouco aporte de N sendo fixado, além de a bactéria competir com a planta por nutrientes e carboidrato.

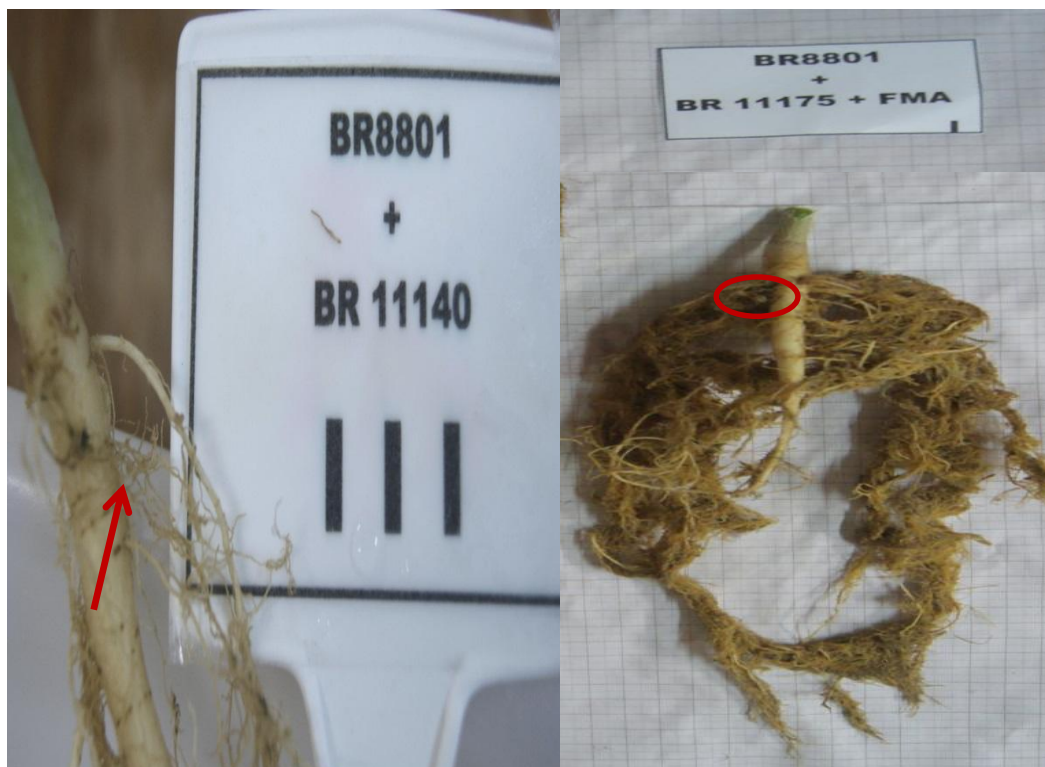


Figura 3. Efeito da inoculação com *Rhizobium sp.*(BR 8801) + BPCP's na presença e ausência de FMA, sobre a nodulação. *Azospirillum amazonense* (BR 11140); BR 11175 (*Herbaspirillum seropedicae*).

Tabela 7. Massa seca dos nódulos (MSN); massa seca da parte aérea (MSPA); teor de P na MSPA; conteúdo de P (CP); alturas de plantas aos 90 e 120 dias após o plantio (DAP) da glirícidia inoculada com *Rhizobium sp.* (BR 8801) e co-inoculada com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's)* na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Bactéria Fungo	TA	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801	BR 8801
		BR 8801 ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		24 ²	BR 11140 ³	BR 11284 ⁴	BR 11364 ⁵	MC 04.21 ⁶	183 – EL ⁷	445 ⁸	454 ⁹	438 ¹⁰	BR11175 ¹¹	
Massa seca dos nódulos - MSN (g vaso ⁻¹)												
Sem	0 bB	0,20 aA	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB	0,00 bB
Com		0,29 aA	0,45 aA	0,35 aA	0,33 aA	0,31 aA	0,33 aA	0,38 aA	0,33 aA	0,33 aA	0,29 aA	0,34 aA
CV (%)	36,07											
Massa seca da parte aérea - MSPA (g vaso ⁻¹)												
Sem	0,70 bB	6,08 aB	1,39 bB	1,86 bB	2,93 bB	0,83 bB	1,58 bB	1,54 bB	2,74 bB	1,25 bB	1,17 bB	0,97 bB
Com		9,82bA	11,87 bA	12,16 bA	11,77 bA	13,02 bA	11,80 bA	15,97 aA	13,01 bA	13,10 bA	12,09 bA	12,13 bA
CV (%)	22,11											
Teor de P (g kg ⁻¹)												
Sem	6,52 bB	14,20 aA	6,34 bB	4,21 cB	4,85 cB	4,48 cB	3,66 cB	3,75 cB	4,02 cB	4,30 cB	4,39 cB	3,57 cB
Com		13,50 aA	11,22 bA	11,80 bA	10,94 bA	10,88 bA	13,26 aA	10,79 bA	11,67 bA	11,70 bA	12,01 bA	11,74 bA
CV (%)	11,17											
Conteúdo de P (CP) na MSPA (g vaso ⁻¹)												
Sem	0.00462bB	0.0859 aB	0.0092 bB	0.0078 bB	0.0143 bB	0.0037 bB	0.0058 bB	0.0058 bB	0.0151 bB	0.0054 bB	0.0051 bB	0.0035 bB
Com	-	0.1323 aA	0.1345 aA	0.1438 aA	0.1287 aA	0.1426 aA	0.1570 aA	0.1730 aA	0.1516 aA	0.1516 aA	0.1442 aA	0.1424 aA
CV (%)	26,60											

Continuação

		Bactéria TA										
		BR 8801	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +	BR 8801 +
Fungo		24	BR 11140	BR 11284	BR 11364	MC 04.21	183 - EL	445	454	438	BR 11175	
Eficiência da fixação de N ₂ (EFN ₂) (mg N g MSN ⁻¹)												
Sem	-	17,50aA	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB
Com	-	28,35aA	36,03aA	37,47aA	42,59aA	41,57aA	33,97aA	55,06aA	40,04aA	40,22aA	38,25aA	35,80aA
CV (%)	39,39											
Altura de Planta 90 DAP (ALT90) (cm)												
Sem	17,00 aB	21,50aA	18,33aB	20,17 aB	19,67 aB	17,50 aB	18,97 aB	19,07 aB	19,50 aB	19,50 aB	18,20 aB	16,67 aB
Com	-	26,00bA	28,67bA	31,00 bA	34,33 aA	30,33 bA	34,83 aA	34,50 aA	28,83bA	36,17 aA	29,00bA	31,83 bA
CV (%)	11,25											
Altura de Planta 120 DAP (ALT120) (cm)												
Sem	18,57 bB	34,00 aA	21,30 bB	23,42 bB	26,50 bB	20,00 bB	22,30 bB	21,60 bB	20,83 bB	21,50 bB	23,00 bB	21,17 bB
Com	-	43,53bA	51,50bA	53,33 aA	55,01 aA	51,60 bA	60,83 aA	60,83 aA	51,17bA	57,73 aA	44,67bA	55,23 aA
CV (%)	15,81											

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Colunas – letras maiúsculas; Linhas – letras minúsculas.

1:BR 8801 (*Rhizobium* sp.); 2:24 (*Paenibacillus brasiliensis*); 3: Y2: BR 11140 (*Azospirillum amazonense*); 4: PAL5: BR 11284 (*Gluconacetobacter diazotrophicus*); 5: BR 11364 (*Burkholderia tropica*); 6: MC 04.21 (*P. graminis*); 7: 183-EL (*Actinomadura* sp); 8: 445 (*Bacillus pumillus*); 9: 454 (*Bacillus subtilis*); 10: 438 (*Bacillus subtilis*); 11: Z67 BR 11175 (*Herbaspirillum seropedicae*).

TA: Testemunha absoluta; CV: Coeficiente de variação.

A massa e o número de nódulos são indicadores de nodulação (Ferreira e Castro, 1995; Araujo et al., 2008). Todavia o indicador massa dos nódulos é mais útil na avaliação da nodulação, devido a melhor correlação com o desempenho simbiótico (Döbereiner et al., 1966; Bohrer e Hungria, 1998; Coelho e Nascimento, 1999; Hungria e Bohrer, 2000).

Na ausência do FMA, a produção de MSPA das plantas quando co-inoculada com BPCP's e *Rhizobium* sp. (BR 8801) foi expressivamente menor em relação às plantas com inoculação única de *Rhizobium* sp. (BR 8801) (Tabela 7).

Quando avaliado o efeito da tripla inoculação de *Rhizobium* sp. + BPCP's + FMA observou-se que todos os tratamentos com adição de BPCP's promoveram maiores valores de MSPA do que o tratamento com inoculação dupla de *Rhizobium* sp. (BR 8801) + FMA, sendo superior a TA. O tratamento inoculado com BR 8801 + BPCP- (*Actinomadura* sp. 183 – EL) + FMA, obteve a maior média e apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos ($p < 0,01$) (Tabela 7).

Assim como observado para as variáveis acima discutidas, a absorção de P foi menor no tratamento co-inoculado com BPCP's e *Rhizobium* (BR 8801) sem a presença de FMA. Nesse caso, o tratamento com inoculação apenas com de *Rhizobium* sp. apresentou maior teor de P no tecido vegetal e foi superior a TA em 117,79%, diferindo significativamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 7).

Quando as plantas foram inoculadas com FMA houve expressivo aumento da absorção de P pela gliricídia em todos os tratamentos, assim como esperado visto a ação do FMA na maior absorção de P (Tabela 7). Esses micro-organismos têm maior importância na absorção de nutrientes de baixa difusão no solo como o P, Cu e Zn (Bolan, 1991; Marschner e Dell, 1994; Amaya-Carpio et al., 2009). Além disso, FMA possuem acesso a formas solúveis de P que também estão disponíveis às plantas sem inoculação (Bolan, 1991), como também podem mobilizar P do solo através da mineralização do P orgânico (Jayachandran et al., 1992).

Os tratamentos BR 8801 + FMA e BR 8801 + BPCP (*Paenibacillus graminis* - MC 04.21) + FMA, foram os que proporcionaram maiores valores de absorção de P, com um aumento de 107,06% e 103,37% respectivamente, quando comparados com a TA. Os referidos tratamentos não diferiram entre si, diferindo ($p < 0,05$), no entanto, dos demais tratamentos (Tabela 7).

O conteúdo de P extraído pela gliricídia foi menor quando houve a co-inoculação do *Rhizobium* sp. (BR 8801) com BPCP's, sendo o tratamento com inoculação única do *Rhizobium* sp. (BR 8801) o que obteve maior conteúdo de P extraído, diferindo dos demais tratamentos ($p < 0,01$). Quando o FMA foi inoculado ao solo o conteúdo de P extraído foi estatisticamente semelhante para todos os tratamentos. A maior extração de P ocorreu no tratamento BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. - 183 EL) + FMA (Tabela 7).

Chu et al. (2001) relatam que a mesma espécie de fungo micorrízico pode proporcionar respostas diferenciadas nos teores dos nutrientes em diferentes plantas hospedeiras e em diferentes condições edafoclimáticas.

A eficiência de fixação de nitrogênio apresentou comportamento semelhante às demais variáveis acima relacionadas. A análise dos dados mostrou que a co-inoculação BPCP's + *Rhizobium* sp. (BR 8801) sem a inoculação de FMA diminuiu a formação de nódulos eficientes e, conseqüentemente a EFN_2 . Na ausência de FMA apenas o tratamento inoculado com *Rhizobium* sp. (BR8801) obteve a maior média diferindo dos demais tratamentos ($p < 0,01$). Na presença de FMA os tratamentos não apresentaram diferenças significativas quanto a EFN_2 (Tabela 7).

Aos 90 dias após o plantio (ALT 90) na presença de FMA todos os tratamentos proporcionaram aumento do crescimento da gliricídia diferindo ($p < 0,05$) dos tratamentos sem FMA (Tabela 6). Os tratamentos com FMA também apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$). Os tratamentos com maiores valores foram: *Rhizobium* sp. (BR 8801) + BPCP (*Gluconacetobacter diazotrophicus* - BR 11284) + FMA; BR 8801 + BPCP (*Paenibacillus graminis* - MC 04.21) + FMA; BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. 183 EL) + FMA e BR 8801 + BPCP (*Bacillus subtilis* - 454) + FMA. Esse último obteve a melhor média. Os tratamentos acima citados não diferiram entre si, mas foram diferentes dos demais tratamentos estudados ($p < 0,01$) para ALT 90 (Tabela 7).

A variável altura da planta aos 120 DAP obteve interação significativa em relação à inoculação *Rhizobium* +BPCP+FMA. Nos tratamentos sem FMA somente o *Rhizobium* sp. (BR 8801) apresentou diferença significativa ($p < 0,01$). Na presença do FMA os tratamentos que proporcionaram as maiores médias foram BR 8801 + BPCP (*Paenibacillus graminis* - MC 04.21) + FMA e BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. - 183 EL) + FMA, apresentando diferença significativa em relação aos demais ($p < 0,01$) (Tabela 7).

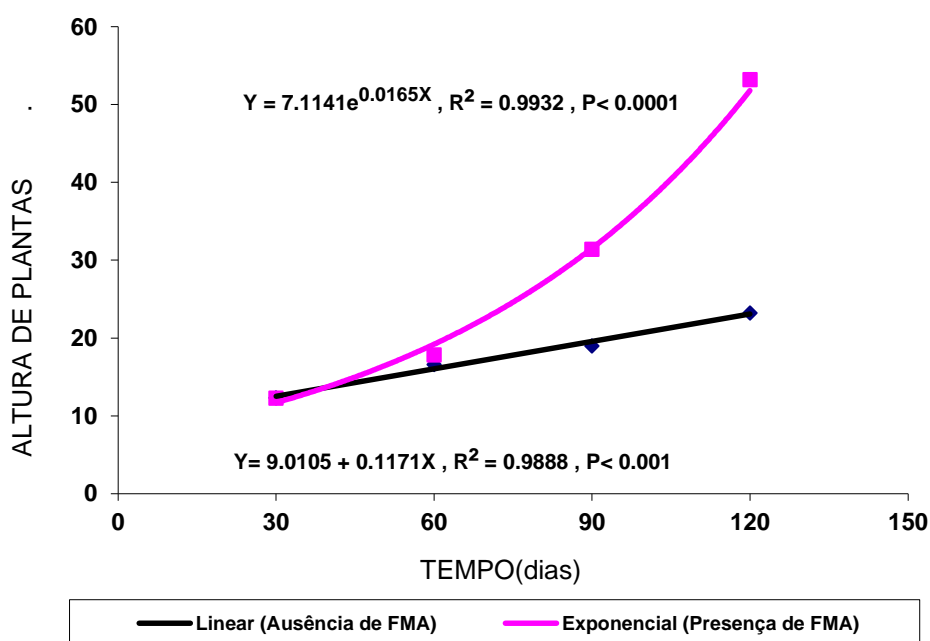


Figura 4. Análise de regressão para crescimento de mudas de gliricídia inoculadas com BPCP's + *Rhizobium* na presença e ausência de FMA.

Pela análise de regressão da variável altura das plantas em função da presença ou da ausência de FMA ao longo do tempo observa-se a importância do FMA no desenvolvimento da gliricídia (Figura 4). A presença do FMA nos tratamentos inoculados com BPCP's + *Rhizobium* promoveu maior crescimento das mudas de gliricídia do que quando estas não foram inoculadas. A inoculação de FMA promoveu melhor absorção de N e P e melhor nodulação para a gliricídia fato este que deve ter possibilitado o melhor desempenho em crescimento das plantas quando inoculadas com FMA em relação as que não foram inoculadas.

Os tratamentos BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. - 183 – EL) + FMA e BR 8801 + BPCP (*Paenibacillus graminis* - MC 04.21) + FMA foram os que obtiveram as maiores médias de crescimento em altura na presença de FMA.

O efeito positivo da inoculação de FMA no crescimento vegetal é bem descrito na literatura, principalmente devido a melhor absorção de fósforo pelas plantas (Lima, 2009; Mendes, 2010; Silva, 2012).

Plantas micorrizadas acumulam em sua folhagem maiores quantidades de P, Ca, Mg, Cu, Mn e, em especial, de N, do que plantas não micorrizadas. A interação fungos micorrízicos-rizóbio aumenta a nodulação e a fixação biológica de N promovendo, assim, melhor absorção de N pelas as plantas (Ross e Harper, 1970; Wang et al., 2011).

Lima et al. (2011) em seu estudo com plantas de feijão-caupi, observou que a dupla inoculação com *Bradyrhizobium* sp. e *Glomus etunicatum* proporcionou maior acúmulo de nitrogênio nas plantas.

Marques et al. (2001) observaram que a dupla inoculação (*Rhizobium* + FMA) aumentou a altura e o crescimento das plantas em relação às inoculadas apenas com estirpes de rizóbio BHICB-Ab1 ou BHICB-Ab3.

O inoculante misto de FMA é uma estratégia que tem sido aplicada, visto que a mistura de fungos micorrízicos pode apresentar melhores resultados para as plantas hospedeiras, podendo, assim, ser melhor do que o uso de uma única espécie de fungo (Hippler et al., 2011).

Os tratamentos inoculados simultaneamente com rizóbio, BPCP's e FMA apresentaram alta eficiência na promoção do crescimento das mudas de gliricídia. A inoculação com FMA promoveu maior produção de MSPA, EFN₂ e absorção de P. Resultados semelhantes foram observados por Mendes (2010) e Silva (2012).

Na ausência do FMA e de BPCP's o tratamento inoculado apenas com a estirpe padrão de rizóbio (BR 8801) não teve a sua nodulação prejudicada e apresentou produção de massa seca de nódulos (MSN) satisfatória. Possivelmente a gliricídia não é dependente do FMA para nodulação. Jesus et al. (2005) citam a dependência de FMA para a nodulação em leguminosas arbóreas, eles trabalharam com as espécies *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Mcbr. e *Piptadenia paniculata* Bentham, e concluíram que elas dependem da micorrização para um crescimento satisfatório e para a nodulação pelos rizóbios.

No entanto, quando em simbiose com BPCP's observou-se que a nodulação não foi expressiva, provavelmente apresentando um efeito antagônico pela co-inoculação *Rhizobium* + BPCP's, por razões desconhecidas

às plantas produziram poucos nódulos e de tamanho reduzido. Em contrapartida, quando foi inoculado *Rhizobium* + BPCP's + FMA a MSN não foi afetada.

Sabe-se que o processo de FBN é altamente exigente em energia na forma de ATP e o adequado fornecimento de P pelo FMA beneficia esse processo, permitindo, conseqüentemente, maior fixação de N₂ (Siqueira e Saggin-Júnior, 2001; Flores-Aylas et al., 2003).

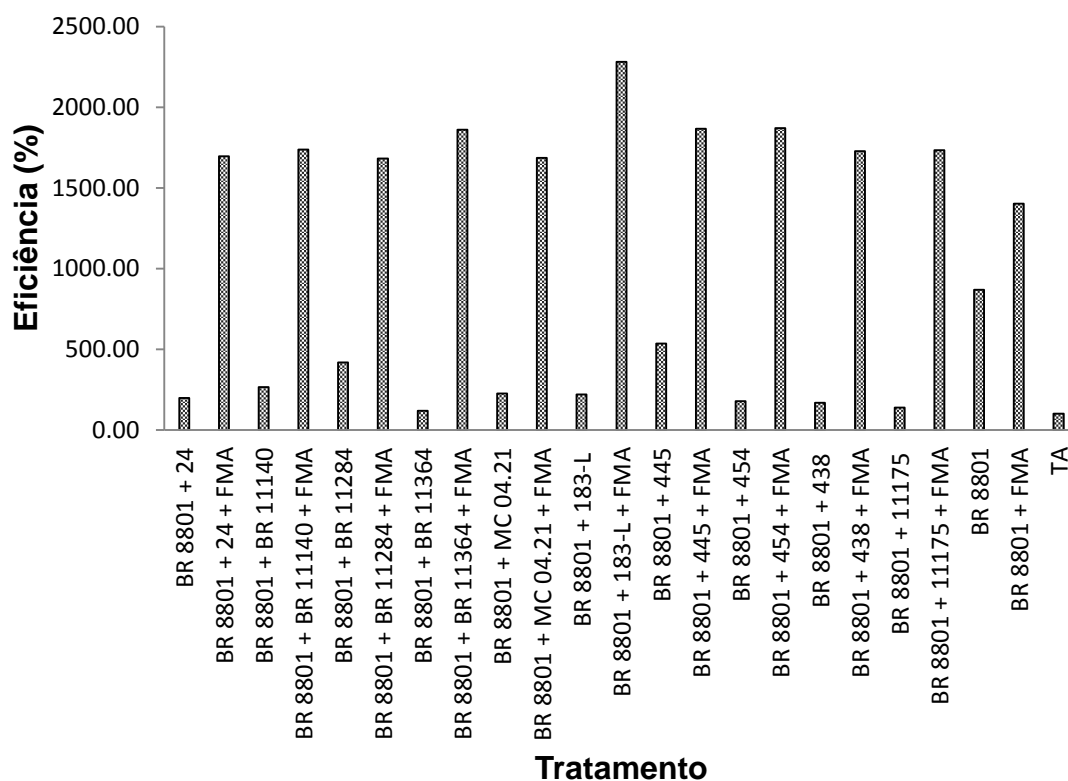


Figura 5. Eficiência* das estirpes em gliricídia relacionadas aos tratamentos inoculados com *Rhizobium* sp. (BR 8801) e co-inoculadas com BR 8801 + bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's)* na presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

*Eficiência = $100 \times (\text{Massa seca da parte aérea (MSPA) de cada estirpe} / \text{pela MSPA da testemunha absoluta, sem inoculação (TA)})$ (Faria e Franco, 2002b).

A dupla inoculação FMA e rizóbios, poderá ser uma boa alternativa para a seleção de estirpes de rizóbio eficientes na fixação de N₂. O processo da micorrização pode auxiliar os isolados de rizóbio testados em ensaios de seleção de estirpes a expressarem sua potencialidade ao favorecer melhor desenvolvimento e nodulação das plantas (Jesus et al., 2005).

O tratamento que apresentou maior eficiência das estirpes entre os inoculados com FMA foi o BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. – 183 EL) + FMA e o de menor eficiência foi o tratamento BR 8801 + FMA (Figura 5).

Silva (2012), avaliando a eficiência das estirpes concluiu que as bactérias que estavam na presença de FMA obtiveram os melhores resultados. O tratamento BR 3405 + *Paenibacillus brasilensis* (24) + FMA obteve melhor resposta, com uma média de 1.845%, enquanto o mesmo tratamento sem FMA obteve 380%.

Todos os tratamentos inoculados com FMA tiveram alta taxa de colonização micorrízica, entre eles os que se destacaram foram: (BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. – 183 EL) + FMA); (BR 8801 + BPCP(*Bacillus subtilis* - 454) + FMA); (BR 8801 + BPCP (*Burkholderia tropica* - BR 11364) + FMA) e (BR 8801 + FMA) (Figura 6) . Boas combinações entre FMA e BPCP's podem promover resultados benéficos para as plantas, como maior desenvolvimento e prevenção de doenças.

Liu et al. (2012) estudando os efeitos do nematoide *Meloidogyne incognita* em tomates, concluiu que combinações específicas de FMA e BPCP podem interagir para suprimir *M. incognita* e o desenvolvimento da doença.

Em imagens visualizadas em microscópio (400x) foi possível observar as principais estruturas fúngicas presentes nas raízes de cada tratamento estudado (Figura 7). Os tratamentos apresentaram vesículas, hifas e esporos, todos associados à presença de arbúsculos, o qual é o principal ponto de troca de carboidratos e nutrientes minerais entre os simbiontes (Saggin Júnior et al., 2002), pois é o ponto onde existe maior superfície de contato entre os dois.

A porcentagem de colonização pode não ser uma variável confiável para definir o efeito que o endófito causa no desenvolvimento da planta hospedeira (Karanika et al., 2008). Dessa forma, é necessário conhecer melhor os mecanismos que controlam as associações micorrízicas para o manejo eficiente da simbiose micorrízica, já que é o estímulo as espécies de FMA e não a

intensidade de colonização radicular que estariam determinando diferentes respostas dos hospedeiros (Muthukumar e Udaiyan, 2002).

Taxas baixíssimas como 5% de colonização, para algumas plantas já é suficiente para um bom desenvolvimento (Karanika et al., 2008). Essa variável ainda pode ser afetada por diversos fatores como idade da planta, pH do solo, densidade de raízes, propágulos de FMA no solo, tipo de espécie vegetal, concentração de nutrientes no solo, alta disponibilidade de P, manejo do solo, dentre outros (Mcgonigle, 2001).

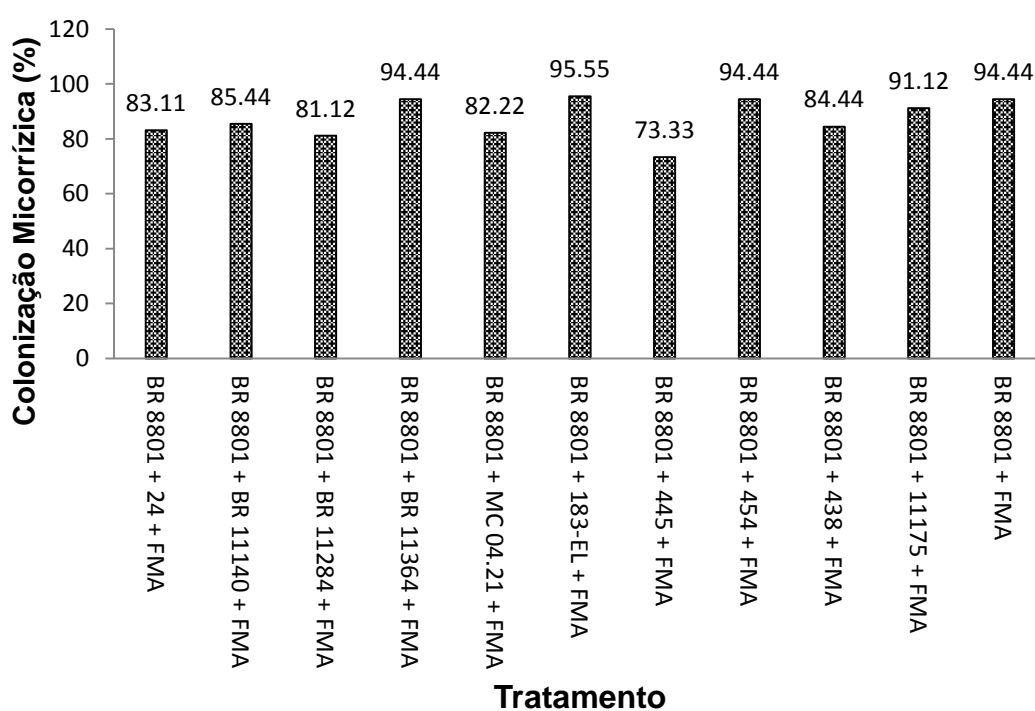


Figura 6. Colonização Micorrízica (CM) das mudas de glicíndia inoculadas com *Rhizobium* sp. (BR 8801); bactéria promotora de crescimento em plantas (BPCP's) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

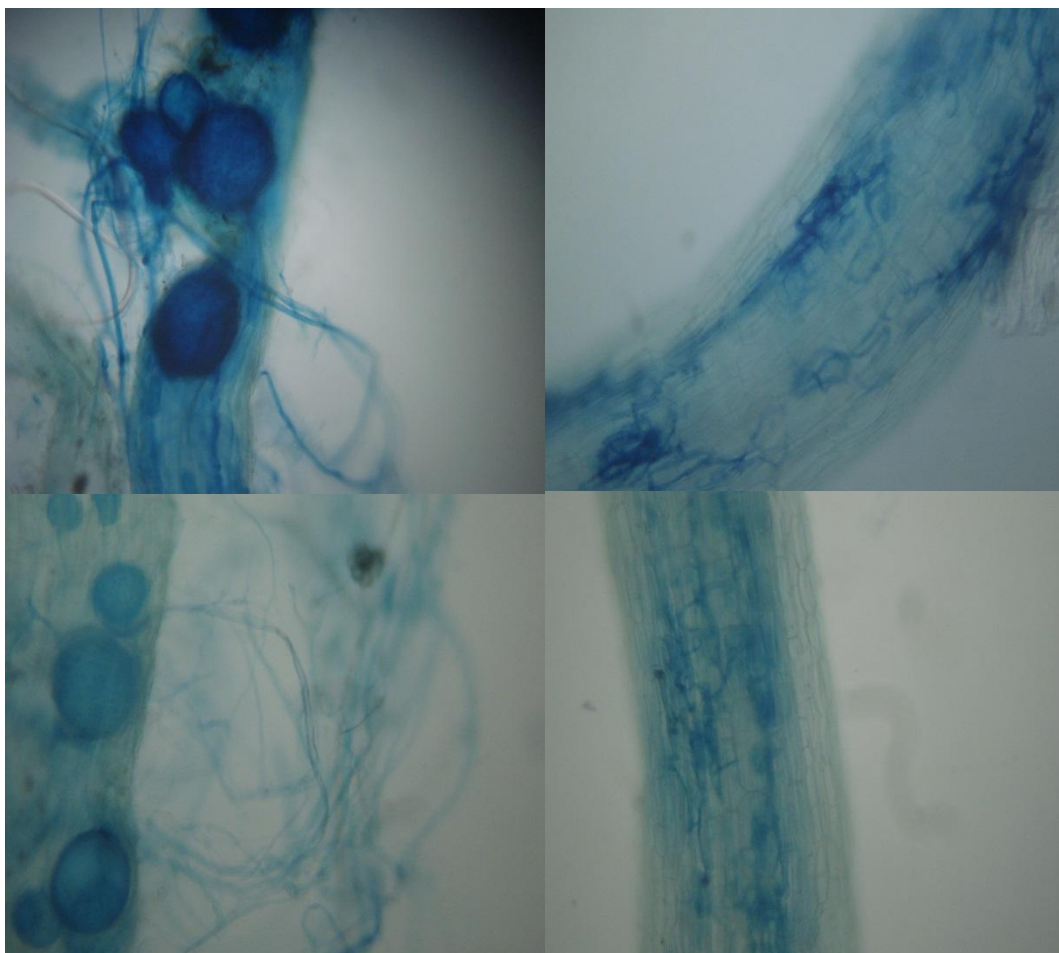


Figura 7. Estruturas fúngicas nas raízes do tratamento inoculado com BR 8801 + BPCP (*Actinomadura* sp. - 183 EL) + FMA, visualizadas em microscópio (400x). Lâmina 54.3.

De acordo com Burity et al. (2000) e (Moreira e Siqueira, 2006), a dupla inoculação rizóbio x FMA é capaz de reduzir os custos com fertilizantes nitrogenados e fosfatados, e dar as plantas maior capacidade para absorver nutrientes, levando a um aumento da produtividade.

Lima (2009), afirma que a inoculação com *G. etunicatum* aumentou a massa seca da parte aérea das plantas de feijão-caupi e foi maior do que os tratamentos inoculados apenas com FMA nativos do solo.

Silva (2012), observou que as plantas de sabiá inoculadas com FMA obtiveram os melhores resultados para massa seca da parte aérea e raiz, eficiência das estirpes e N acumulado, e apresentaram uma média em torno de 84% de colonização radicular.

5. CONCLUSÕES

1. A tripla inoculação com bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP's), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e *Rhizobium sp.* (BR 8801) promoveu maior crescimento e absorção de nutrientes na gliricídia.
2. Os resultados indicaram que a aplicação do *Rhizobium sp.* com BPCP's interferiu no crescimento e nutrição da gliricídia.
3. A inoculação de FMA no solo proporcionou melhor resposta nas variáveis de MSN, MSPA, conteúdo de P, EFN₂, altura da planta aos 90 e 120 DAP e no teor de P, resultando em efeito benéfico no crescimento vegetal da gliricídia.
4. A inoculação da gliricídia com *Rhizobium sp.* + BPCP's + FMA promoveu os melhores resultados para a variável MSPA do que a inoculação com *Rhizobium sp.* + FMA.
5. Os tratamentos inoculados com FMA proporcionaram aumento do teor de P na gliricídia, sendo que os tratamentos BR 8801 + FMA e BR 8801 + *Paenibacillus graminis* (MC 04.21) + FMA apresentaram maiores valores de P.
6. A maior extração de P na gliricídia ocorreu no tratamento BR 8801 + *Actinomadura sp.* (183 – EL) + FMA.
7. A maior eficiência da fixação de N₂ e massa seca da parte aérea em gliricidia foram obtidas pela co-inoculação BR 8801 + *Actinomadura sp.* (183 – EL) + FMA.
8. As maiores taxas de colonização na gliricídia foram obtidas pelos tratamentos: BR 8801 + *Actinomadura sp.* (183 – EL) + FMA, com a melhor taxa de colonização micorrízica (CM), BR 8801 + *Bacillus subtilis* (454) + FMA, BR 8801 + *Burkholderia tropica* (BR 11364) + FMA e BR 8801+FMA.

6. REFERÊNCIAS

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research* [S.l.], v. 163, n. 2, p. 173-181, 2008.

ALARCÓN, A.; FERRERA-CERRATO, R. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra* [S.l.], v. 17, n. 3, p. 179-191, 1999.

ALI, B.; SABRI, A. N.; HASNAIN, S. Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of *Vigna radiata* (L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [S.l.], v. 26, n. 8, p. 1379-1384, 2010.

ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. *The Leguminosae: A Source Book of Characteristics, Uses and Nodulation*. Univ of Wisconsin Press, 1981. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books>. Acesso em: 5/12/12.

AMAYA-CARPIO, L.; DAVIES, F. T., JR.; FOX, T.; HE, C. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilizer influence photosynthesis, root phosphatase activity, nutrition, and growth of *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*. *Photosynthetica* [S.l.], v. 47, n. 1, p. 1-10, 2009/03/01 2009.

ARAUJO, A.; LEITE, L.; IWATA, B. D.; LIRA, M. D.; XAVIER, G.; FIGUEIREDO, M. D. Microbiological process in agroforestry systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* [S.l.], v. 32, n. 1, p. 215-226, 2012.

ARAUJO, F. F. D.; CARMONA, F. G.; TIRITAN, C. S.; CRESTE, J. E. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada-DOI: 10.4025/actasciagron. v29i4. 416. *Acta Scientiarum. Agronomy* [S.l.], v. 29, n. 4, p. 535-540, 2008.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; SCHERER, A. Mycorrhizal effectiveness on physic nut as influenced by phosphate fertilization levels. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [S.l.], v. 36, p. 23-32, 2012.

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. Cultivo de *Gliricidia sepium* e *Leucaena leucocephala* em alamedas visando a melhoria dos solos dos tabuleiros costeiros. *Pesq. agropec. bras., Brasília* [S.l.], v. 36, n. 10, p. 1287-1293, 2001.

BENEDUZI, A.; MOREIRA, F.; COSTA, P. B.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; FAVRETO, R.; BALDANI, J. I.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. *Applied Soil Ecology* [S.l.], v. 63, n. 0, p. 94-104, 2013.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa, MG: SBCS, 2006. Cap.III. p. 53-88.

BIABANI, A.; CARPENTER-BOGGS, L.; COYNE, C.; TAYLOR, L.; SMITH, J.; HIGGINS, S. Nitrogen fixation potential in global chickpea mini-core collection. *Biology and Fertility of Soils* [S.l.], v. 47, n. 6, p. 679-685, 2011/08/01 2011.

BOHRER, T. R. J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [S.l.], v. 33, n. 6, p. 937-952, 1998.

BOLAN, N. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* [S.l.], v. 134, n. 2, p. 189-207, 1991.

BOMFETI, C. A.; FLORENTINO, L. A.; GUIMARÃES, A. P.; CARDOSO, P. G.; GUERREIRO, M. C.; MOREIRA, F. M. D. S. Exopolysaccharides produced by the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of leguminosae. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [S.l.], v. 35, p. 657-671, 2011.

BURITY, H. A.; LYRA, M.; SOUZA, E. D.; MERGULHÃO, A.; SILVA, M. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [S.l.], v. 35, n. 4, p. 801-807, 2000.

CARVALHO FILHO, O. M. D.; DRUMOND, M. A.; LANGUIDEY, P. H. *Gliricidia sepium*: leguminosa promissora para regiões semi-áridas. Petrolina - PE: Embrapa Semiárido, 1997. p. 16. (Circular Técnica / INFOTECA-E).

CHU, E. Y.; MÖLLER, M. D. R. F.; CARVALHO, J. D. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [S.l.], v. 36, n. 4, p. 671-680, 2001.

COELHO, K. J. F.; NASCIMENTO, R. Nodulação de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) submetido a déficit hídrico crescente no solo. *Agropecuária Técnica* [S.l.], v. 20, n. 2, p. 58-67, 1999.

DE ARAÚJO, A. S. F.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; DE ARAÚJO, F. F. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: Efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ eo crescimento das plantas. *Ciência Rural* [S.l.], n. 1, 2010.

DJORDJEVIC, M. A.; GABRIEL, D. W.; ROLFE, B. G. *Rhizobium*-The Refined Parasite of Legumes. *Annual Review of Phytopathology* [S.l.], v. 25, n. 1, p. 145-168, 1987.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N. D.; PENTEADO, A. D. F. Avaliação da fixação do nitrogênio em leguminosas, pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [S.l.], v. 1, p. 233-237, 1966.

DÖBEREINER, J. A., V. DE O.; BALDANI, V.L.D. Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia. Seropédica – RJ: Embrapa agrobiologia, 1999. p. 38.

DRUMOND, M. A.; CARVALHO FILHO, O. M. Introdução e Avaliação da *Gliricidia sepium* na Região Sem-Árida do Nordeste Brasileiro. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.). *Melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro* Petrolina – PE: Embrapa Semi-Árido/Embrapa Recursos genéticos – Cenargen, 1999.

ELEVITCH, C. R.; FRANCIS, J. K. *Gliricidia sepium (gliricidia)*. Hōlualoa - Hawai'i.: Permanent Agriculture Resources (PAR), 2006. Disponível em:< www.tradicionaltree.org>. Acesso em: 28/02/2013.

EMBRAPA. *Manual de métodos de análise de solo*. Rio de Janeiro: Centro Nacional de pesquisa de solos, 1997.

EMBRAPA. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 2. ed., 2006.

EMBRAPA, M. P. S. Mapeamento e Estimativa da Área Urbanizada do Brasil. Disponível em: <http://www.urbanizacao.cnpm.embrapa.br/conteudo/uf/pe.html>., Acesso em: 24 de fevereiro de 2013.

FARIA, S. D.; FRANCO, A. Identificação de bactérias eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies leguminosas arbóreas. *Embrapa Agrobiologia. Documentos* [S.l.], v. 158, 2002a.

FARIA, S. M. D.; FRANCO, A. A. Obtenção de inoculantes eficientes para Fixação Biológica de Nitrogênio em espécies leguminosas arbóreas. Seropédica - RJ: Embrapa Agrobiologia - Documentos 158, 2002b. p. 16.

FARINA, R.; BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; DE CAMPOS, S. B.; LISBOA, B. B.; WENDISCH, V.; VARGAS, L. K.; PASSAGLIA, L. M. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stages of canola growth. *Applied Soil Ecology* [S.l.], v. 55, p. 44-52, 2012.

FERREIRA, E. M.; CASTRO, I. V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry* [S.l.], v. 27, n. 9, p. 1177-1183, 1995.

FIGUEIREDO, M. R. V. B.; BURITY, H. L. A.; MARTÍNEZ, C. R.; CHANWAY, C. P. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. *Applied Soil Ecology* [S.l.], v. 40, p. 182-188, 2008.

FLORES-AYLAS, W. W.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Efeito de *Glomus etunicatum* e fósforo no crescimento inicial de espécies arbóreas em semeadura direta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* [S.l.], v. 38, n. 2, p. 257-266, 2003.

FRANCO, A. A. Uso de *Gliricidia sepium* como moirão vivo. Rio de Janeiro: Embrapa - UAPNPBS, 1988. p. 1-5. (Comunicado técnico 3).

FREITAS, L. G. Rizobactérias versus nematóides. 2001. Disponível em:<<http://pt.scribd.com/doc/39429923/rizo>>. Acesso em: 25/01/2013.

FREITAS, S. S. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Ed.). *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental*. Campinas - SP: Instituto Agronômico, 2007.

GADKAR, V.; DAVID-SCHWARTZ, R.; KUNIK, T.; KAPULNIK, Y. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. *Plant physiology* [S.I.], v. 127, n. 4, p. 1493-1499, 2001.

GALLOWAY, J. N.; TOWNSEND, A. R.; ERISMAN, J. W.; BEKUNDA, M.; CAI, Z.; FRENEY, J. R.; MARTINELLI, L. A.; SEITZINGER, S. P.; SUTTON, M. A. Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions. *Science* [S.I.], v. 320, n. 5878, p. 889-892, May 16, 2008 2008.

GHOSH, D.; BAL, B.; KASHYAP, V.; PAL, S. Molecular phylogenetic exploration of bacterial diversity in a Bakreshwar (India) hot spring and culture of *Shewanella*-related thermophiles. *Applied and environmental microbiology* [S.I.], v. 69, n. 7, p. 4332-4336, 2003.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. AN EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL INFECTION IN ROOTS. *New Phytologist* [S.I.], v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

HARRISON, M. J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual review of plant biology* [S.I.], v. 50, n. 1, p. 361-389, 1999.

HIPPLER, F. W. R.; MOREIRA, M.; NAISSA, M. S. D.; EMILIO, R. H. Fungos micorrízicos arbusculares nativos e doses de fósforo no desenvolvimento do amendoim RUNNER IAC 8861. *Revista Ciência Agronômica* [S.I.], v. 42, n. 3, p. 605-610, 2011.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station* [S.I.], v. 347, n. 2nd edit, 1950.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. *Biology and Fertility of Soils* [S.I.], v. 31, n. 1, p. 45-52, 2000/04/01 2000.

JAYACHANDRAN, K.; SCHWAB, A. P.; HETRICK, B. A. D. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil biology & biochemistry* [S.I.], v. 24, n. 9, p. 897-903, 1992.

JESUS, E. D. C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. D. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. *Revista Árvore* [S.I.], v. 29, 2005.

KARANIKA, E. D.; VOULGARI, O. K.; MAMOLOS, A. P.; ALIFRAGIS, D. A.; VERESOGLOU, D. S. Arbuscular mycorrhizal fungi in northern Greece and influence of soil resources on their colonization. *Pedobiologia* [S.I.], v. 51, n. 5-6, p. 409-418, 2008.

KETYLEN. Os seres mais simples. Disponível em: <http://portalcienciasebiologiaa.blogspot.com.br/2011/11/as-virus-os-virus-sao-seres-tao.html>, Acesso em: 25/02/2013.

KIILL, L. H. P.; DRUMOND, M. A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. (Fabaceae- Papilionoidae) na região de Petrolina, Pernambuco. *Ciência Rural* [S.I.], v. 31, p. 597-601, 2001.

LACAVA, P. T.; ANDREOTE, F. D.; AZEVEDO, J. L. Metabólicos secundários produzidos por microrganismos endofíticos. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (Ed.). *Microrganismos e agrobiodiversidade: O novo desafio para agricultura*. Guaíba - RS: Agrolivros, 2008. p. 211-232.

LAZAROVITZ, G.; NOWAK, J. Rhizobacterium for improvement of plant growth and establishment. *Hortscience* [S.I.], v. 32, n. 2, p. 188-192, 1997.

LIMA, A. S. T. D. *MAXIMIZAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO N₂ PELA INTERAÇÃO BPCPS X RIZÓBIOS X FMA NO CAUPI*. (2009). 57 f. (Mestrado) - Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE, 2009.

LIMA, A. S. T. D.; BARRETO, M. D. C. S.; ARAÚJO, J. M.; SELDIN, L.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. D. V. B. Sinergismo *Bacillus*, *Brevibacillus* e, ou, *Paenibacillus* na simbiose *Bradyrhizobium-caupi*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [S.I.], v. 35, p. 713-721, 2011.

LIU, R.; DAI, M.; WU, X.; LI, M.; LIU, X. Suppression of the root-knot nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria. *Mycorrhiza* [S.I.], v. 22, n. 4, p. 289-296, 2012/05/01 2012.

LODEIRO, A. R.; GONZÁLEZ, P.; HERNÁNDEZ, A.; BALAGUÉ, L. J.; FAVELUKES, G. Comparison of drought tolerance in nitrogen-fixing and inorganic nitrogen-grown common beans. *Plant Science* [S.I.], v. 154, p. 31-41, 2000.

LUGTENBERG, B. J.; CHIN-A-WOENG, T. C.; BLOEMBERG, G. Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek* [S.I.], v. 81, n. 1-4, p. 373-383, 2002/03/01 2002.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. D. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. *Revista Árvore* [S.I.], v. 29, p. 843-851, 2005.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica* [S.I.], v. 1, p. 89-111, 2004.

MARIN, A. M. P.; MENEZES, R. S. C.; SILVA, E. D.; SAMPAIO, E. V. D. S. B. Efeito da *Gliricidia sepium* sobre nutrientes do solo, microclima e produtividade do milho em sistema agroflorestal no Agreste Paraibano. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [S.I.], v. 30, p. 555-564, 2006.

MARQUES, M. S.; PAGANO, M.; SCOTTI, M. R. M. M. L. Dual inoculation of a woody legume (*Centrolobium tomentosum*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. *Agroforestry Systems* [S.I.], v. 52, n. 2, p. 107-117, 2001/05/01 2001.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* [S.I.], v. 159, n. 1, p. 89-102, 1994/02/01 1994.

MCGONIGLE, T. P. On the use of non-linear regression with the logistic equation for changes with time of percentage root length colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* [S.I.], v. 10, n. 5, p. 249-254, 2001/03/01 2001.

MENDES, M. M. C. *CRESCIMENTO DE SABIÁ (Mimosa caesalpiniaefolia Benth.) EM RESPOSTA À INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES*. (2010). 87 f. (Mestrado) - Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE, 2010.

MIRANSARI, M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* [S.I.], v. 89, n. 4, p. 917-930, 2011/02/01 2011.

MOAWAD, H.; BADR EL-DIN, S. M. S.; ABDEL-AZIZ, R. A. Improvement of biological nitrogen fixation in Egyptian winter legumes through better management of Rhizobium. *Plant and Soil* [S.I.], v. 204, n. 1, p. 95-106, 1998/07/01 1998.

MOREIRA, F. M. S.; FARIA, S. M.; BALIEIRO, F. C.; FLORENTINO, L. A. Bactérias fixadoras de N₂ e fungos micorrízicos arbusculares em espécies florestais: avanços e aplicações biotecnológicas. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. (Ed.). *Biotecnologia aplicada à agricultura*. Recife - PE: Embrapa Informação tecnológica, Instituto Agrônômico de Pernambuco - IPA, 2010a. Cap.IV-Microrganismos promotores do crescimento de plantas. p. 339-477.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae* [S.I.], v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010b.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: UFLA, 2006.

MUTHUKUMAR, T.; UDAIYAN, K. Growth and yield cowpea as influenced by changes in arbuscular mycorrhiza in response to organic manuring. *Journal of Agronomy and Crop Science* [S.I.], v. 188, n. 2, p. 123-132, 2002.

NEVES, M. C. P.; DIDONET, A. D.; DUQUE, F. F.; DOÖBEREINER, J. *Rhizobium* Strain Effects on Nitrogen Transport and Distribution in Soybeans.

- Journal of Experimental Botany* [S.I.], v. 36, n. 8, p. 1179-1192, August 1, 1985
1985.
- NOBRE, A. P. *Respostas de mudas de Gliricidia sepium à aplicação de nitrogênio e fósforo*. (2008). 56 f. (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB, 2008.
- NYOKA, B. I.; SIMONS, A. J.; AKINNIFESI, F. K. Genotype–environment interaction in *Gliricidia sepium*: Phenotypic stability of provenances for leaf biomass yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment* [S.I.], v. 157, n. 0, p. 87-93, 2012.
- O’GARA, F.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; DOWLING, D.; NUTI, M. Recent Developments in Biotechnology and the Potential Impact on Nitrogen Fixation in the Field *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications*: Springer, 1995. p. 623-628.
- OEHL, F.; SIEVERDING, E.; PALENZUELA, J.; INEICHEN, K.; DA SILVA, G. A. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus: The Global Mycological Journal* [S.I.], v. 2, n. 2, p. 191, 2011.
- OLIVEIRA, L. S.; PEREIRA, M. D. S. F.; DE PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; MEGUMIKASUYA, M. C.; DIAS, P. C. Micorriza arbuscular e rizóbios no enraizamento e nutrição de mudas de angico-vermelho. *Revista Árvore* [S.I.], v. 36, n. 6, p. 1027-1037, 2012.
- ORTÍZ-CASTRO, R.; CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; LÓPEZ-BUCIO, J. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant signaling & behavior* [S.I.], v. 4, n. 8, p. 701-712, 2009.
- PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. *Forest ecology and management* [S.I.], v. 196, n. 2, p. 275-285, 2004.
- PEREIRA JÚNIOR, L. R.; GAMA, J. S. N.; RESENDE, I. R. A. Propagação vegetativa de *Gliricidia sepium* no curimatáu paraibano. *Revista Verde* [S.I.], v. 3, n. 3, p. 17-20, 2008.
- PÉREZ, C.; BOTERO, L.; CEPERO, G. Diversidad de micorrizas arbusculares en pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus de fincas ganaderas del municipio de Corozal-Sucre. *Revista MVZ Córdoba* [S.I.], v. 17, n. 2, p. 3024-3032, 2012.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Plant, Cell & Environment* [S.I.], v. 26, n. 2, p. 189-199, 2003.
- REDECKER, D.; MORTON, J. B.; BRUNS, T. D. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molecular phylogenetics and evolution* [S.I.], v. 14, n. 2, p. 276-284, 2000.

REIS, V. M.; TEIXERA, K. Fixação Biológica de nitrogênio–Estado da Arte. *Processos biológicos no sistema soloplanta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica [S.I.], 2005.

REITER, B.; BÜRGMANN, H.; BURG, K.; SESSITSCH, A. Endophytic nifH gene diversity in African sweet potato. *Canadian Journal of Microbiology* [S.I.], v. 49, n. 9, p. 549-555, 2003/09/01 2003.

RILLIG, M. C.; MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* [S.I.], v. 171, n. 1, p. 41-53, 2006.

ROSS, J.; HARPER, J. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathology* [S.I.], v. 60, n. 11, p. 1552, 1970.

SAGGIN JÚNIOR, O.; SILVA, E.; AQUINO, A.; ASSIS, R. Micorriza arbuscular: papel, funcionamento e aplicação da simbiose. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia* [S.I.], 2002.

SANCHEZ-DIAZ, M.; PARDO, M.; ANTOLIN, M.; PENA, J.; AGUIRREOLEA, J. Effect of water stress on photosynthetic activity in the< i> Medicago-Rhizobium-Glomus</i> symbiosis. *Plant Science* [S.I.], v. 71, n. 2, p. 215-221, 1990.

SCHENCK, N. C.; PEREZ, Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. International Culture Collection of VA Mycorrhizal Fungi, University of Florida, 1988.

SIEVERDING, E.; FRIEDRICHSEN, J.; SUDEN, W. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. TZ-Verlagsgesellschaft, 1991.

SILVA, E. V. N. D. *INTERRELAÇÃO BACTÉRIAS (MHB) E FMA: ESTRATÉGIA PARA ESTIMULAR A EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA E MICORRIZAÇÃO DE SABIÁ* (2012). 87 f. (Mestrado) - Agronomia (Ciência do Solo), UFRPE, Recife - PE, 2012.

SILVA, F. D. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. In: EMBRAPA (Ed.). *Brasília: EMBRAPA Comunicação para transferência de tecnologia*. v. 2.ed. Brasília - DF: Embrapa Informação Tecnológica 2009. p. 627.

SILVA, M. S.; NISHIDA, S. M. Vida primitiva: como teriam surgido os primeiros organismos? Disponível em: http://www2.ibb.unesp.br/Museu_Escola/6_origem/origem_vida/origem.htm, Acesso em: 05/02/2012.

SILVA, V. N. D.; SILVA, L. E. D. S. F. D.; MARTÍNEZ, C. R.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. D. V. B. Estirpes de Paenibacillus promotoras de nodulação específica na simbiose *Bradyrhizobium-caupi*-DOI: 10.4025/actasciagron. v29i3. 277. *Acta Scientiarum. Agronomy* [S.I.], v. 29, n. 3, p. 331-338, 2007.

SIMONS, A. J.; STEWART, J. L. *Gliricidia sepium* - a Multipurpose Forage Tree Legume. In: GUTTERIDGE, R. C.; SHELTON, H. M. (Ed.). *Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture*. Queensland, Australia: CAB International, Oxon, UK, 1994.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza* [S.I.], v. 11, n. 5, p. 245-255, 2001.

SMITH, S. E.; READ, D. J. *Mycorrhizal Symbiosis*. London - UK: Academic Press, 2008. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books>>.

SOUZA, F. A.; SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). *Biodiversidade do solo em ecossistemas Brasileiros*. Lavras: UFLA, 2008. p. 482-536.

SOUZA, S.; FERNANDES, M. Nitrogênio. *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: SBCS [S.I.], p. 215-254, 2006.

SOUZA, V. C. D.; SILVA, R. A. D.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* [S.I.], v. 10, p. 612-618, 2006.

STAMFORD, N.; FREITAS, A.; FERRAZ, D.; MONTENEGRO, A.; SANTOS, C. Nitrogen fixation and growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) in a sodic soil as affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. *Tropical Grasslands* [S.I.], v. 37, n. 1, p. 11-19, 2003.

SUNDRAM, S.; MEON, S.; SEMAN, I. A.; OTHMAN, R. Symbiotic interaction of endophytic bacteria with arbuscular mycorrhizal fungi and its antagonistic effect on *Ganoderma boninense*. *The Journal of Microbiology* [S.I.], v. 49, n. 4, p. 551-557, 2011.

VINCENT, J. M. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. [S.I.], 1970.

WANG, S.; FENG, Z.; WANG, X.; GONG, W. Arbuscular mycorrhizal fungi alter the response of growth and nutrient uptake of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to O-3. 2011.

WILLIAMS, L.; MILLER, A. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annual review of plant biology* [S.I.], v. 52, n. 1, p. 659-688, 2001.